

令和元年6月14日現在

機関番号：12401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H04161

研究課題名(和文) ナノ気泡およびナノ超臨界流体を構成要素とする複合分離場の創製と高機能化

研究課題名(英文) Development and functionalization of hybrid separation systems containing nano-bubbles and nano-supercritical fluid

研究代表者

渋川 雅美 (Shibukawa, Masami)

埼玉大学・理工学研究科・教授

研究者番号：60148088

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：水溶液中で気体が疎水性ナノ細孔に安定に固定化される現象に基づいて、気相、水/疎水性物質界面、および疎水性物質相が複合的に分離場として作用する表面気泡変調液体クロマトグラフィーを開発した。この技術は、アルキル結合型シリカだけでなく、他の疎水性多孔質材料を充填したカラムでも実施可能であることを示すとともに、これを用いて、水溶液中の化合物の分離分析に最も多用されている逆相液体クロマトグラフィーの分離機構を定量的に解明することに成功した。また、この技術に基づいて超臨界二酸化炭素を疎水性ナノ細孔に固定化し、これを固定相とする超臨界流体固定化液体クロマトグラフィーを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、気体(水蒸気)と超臨界二酸化炭素を分離媒体の構成要素とする新しい液体クロマトグラフィーを開発した。これらのクロマトグラフィーは移動相溶媒として水のみを用いる環境にやさしい分離法であり、通常は有機溶媒を添加して最適分離系を作り出すのに対して、圧力と温度を変えることによって分離を制御することができるという、大きな特長を持つ。また、これまで解明することが困難であった水溶液中の化合物の分離法として最も汎用されている逆相分離系の分離メカニズムを、開発した液体クロマトグラフィーによって明らかにすることに成功した。

研究成果の概要(英文)：We developed surface-bubble-modulated liquid chromatography (SBMLC), which has a hybrid stationary phase consisting of gas phase as well as the hydrophobic material and the water/hydrophobe interface and showed that this chromatographic method can be performed with the columns packed with various types of hydrophobic porous materials. We determined the distribution coefficients of various organic compounds referring to accumulations onto the water/alkyl chain interface and into the alkyl chain layer from the bulk water by SBMLC. The experimental data provide a picture of the spatial distribution of organic molecules in alkyl bonded silica particles exposed to water. We also developed a liquid chromatography with supercritical fluid stationary phase, which has the hybrid stationary phase consisting of the supercritical carbon dioxide phase, the interfacial liquid phase and the hydrophobic moiety.

研究分野：分析化学

キーワード：ナノ気泡 超臨界流体 界面水 疎水性ナノ細孔 表面気泡変調液体クロマトグラフィー HPLC

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

近年ナノメートルオーダーの微小空間内に取り込まれた水がバルク水とは異なる物性を示す現象が観測されるようになり、多くの研究者の興味を惹いているが、水の置かれる空間と分離機能との関係に着目した研究は少ない。研究代表者は、種々の疎水性多孔質粒子内に取り込まれた水が溶質に対してバルク水とは異なる親和性を示すこと、すなわち特異的な分離機能を持つことを明らかにしてきた。また、この分離機能は疎水性ナノ空間水がバルク水とは異なる構造を持つことに基因すること、すなわち疎水性ナノ空間水そのものが分離媒体として機能することが原因であることを示した。一方、水中に置かれた疎水性物質表面にナノメートルから数十ナノメートルサイズの気泡(ナノ気泡)が発生し、これが熱力学から予測される結果とは異なり、極めて安定に長時間存在することが最近明らかにされ、特に界面化学分野で大きな注目を集めている。これとは独立に、水を移動相とする逆相液体クロマトグラフィーの研究において、多孔質粒子内から水が抜け出す現象が観測されていた。

研究代表者は、疎水性ナノ空間水に関する自身の研究結果の考察に基づいて、疎水性多孔質粒子内からの水の抜け出しは疎水性ナノ空間において液相水が気体に相変化し、ナノ気泡を形成することによるものであると推測し、この現象の解明に取り組んだ。その結果、疎水性ナノ空間に置かれた液相水は一定の圧力以下で水蒸気に相変化することを見出すとともに、この現象を利用して気体を固定相の一構成要素とする新たな液体クロマトグラフィーの創出が可能であることを明らかにした。すなわち、ナノ気泡の固定化により、疎水性材料自身および固液界面水に加えて、気相自体のほかに気固および気液の2つの界面が新たな独立の分離場として加わったハイブリッド固定相が創製されること、さらにナノ気泡の大きさは圧力を用いて自在に変えることができるので、各分離場の大きさをこれによって変えることができ、分離選択性の圧力制御が可能な分離システムを生み出せることを示した。この新しい液体クロマトグラフィーは、表面気泡変調液体クロマトグラフィー(SBMLC)と名づけた。一方、この研究過程で、二酸化炭素を気体としてだけでなく超臨界流体として疎水性ナノ空間中に固定化できる可能性を見出した。これらの研究結果は、ナノメートルサイズの気体から超臨界流体を固定相の構成要素として介在させることにより、複数のそれぞれ異なる分離選択性を有する分離場で構成されるハイブリッド固定相をもつ液体クロマトグラフィーシステムを構築して、界面水ならびにハイブリッド固定相の構造を圧力と温度によって制御する新規分離選択性を発現する環境適合型分離分析法を生み出すことができることを示している。

2. 研究の目的

本研究では、上記の研究背景に基づき、気体および超臨界流体を構成要素とする新奇な複合分離場を創製し、これを利用した新しいハイブリッド分離システムを構築することを目的とした。このために、以下に示す3つの課題を達成することを目標とした。

ナノ細孔への気体および超臨界流体固定化法の開発とサイズ制御技術の確立

水/疎水性界面の分離機能評価と逆相液体クロマトグラフィーにおける溶質保持機構の解明
ナノ気泡および超臨界流体固定化液体クロマトグラフィーの分離性能評価

3. 研究の方法

(1) 表面気泡変調液体クロマトグラフィー

SBMLCシステムは、島津製 LC-30AD ポンプ、SIL-30AC オートサンプラー、SPD-M20A フォトダイオードアレイ検出器および RID-10A 示差屈折率検出器で構成した。カラムは島津製 CTO-30A カラムオープンで温度制御した。カラム充填剤としては、C18 および C8 結合型シリカのほか、フェニルヘキシル基結合型シリカおよびポリスチレン-ジビニルベンゼン共重合体樹脂(PS-DVB)を用いた。カラムをジクロロメタンで満たし、ついでカラムの両端を開放して60 に設定したガスクロマトグラフィー用オープン内で加熱乾燥し、質量測定により有機溶媒が完全に除去されたことを確認した後、移動相を通液して気相を多孔質充填剤内部に固定化した。バルク液相体積は研究代表者が創案した溶離電解質効果法により、NaCl と NaClO₄ を溶離電解質、および Br⁻、NO₃⁻、I⁻、SCN⁻ をブローイオンとして測定し、カラム内全液相体積からバルク液相体積を差し引いて界面液相体積を求めた。

(2) 超臨界流体固定化液体クロマトグラフィー

超臨界二酸化炭素を固定相とする液体クロマトグラフィーシステムは、日本分光製 PU-2080 Plus ポンプ、高耐圧セルを備えた UV-2075 Plus 紫外可視吸光検出器、880-81 圧力調整器、Rheodyne 製 7725i マニュアルインジェクターおよび耐圧硝子製 TSC-CO₂-002 高圧容器を用いて構築した。高圧容器は日本分光製 860-CO カラムオープン、またカラムは資生堂製 NANOSPACE SI-1 カラムオープンにより温度を制御した。

超臨界二酸化炭素は高圧容器にドライアイスを粉砕して充填した後、これに水を HPLC ポンプで送液して臨界点以上の圧力とすることによって調製した。この高圧容器から送出される二酸化炭素飽和水溶液と他の HPLC ポンプにより送液される水とをミキシングコイルで混合して移動相とし、これを C18 結合型シリカカラムに通液した。

4. 研究成果

(1) ナノ細孔への気体および超臨界流体固定化法の開発とサイズ制御技術の確立

カラムをジクロロメタンまたはアセトンで満たし、ついでカラムの両端を開放して 60 に設定したガスクロマトグラフィー用オープン内で加熱乾燥し、質量測定により有機溶媒が完全に除去されたことを確認した後、純水を通液した。この方法で処理したカラムと水で満たしたときのカラムの内部の液相水の体積を、重水をマーカーとして測定したところ、いずれのカラムについても細孔内が気相で満たされていることが明らかになった。

前項で述べた方法により調製した二酸化炭素水溶液を、臨界点以上の圧力と温度に設定した C18 結合型シリカカラムに通液し、チオ尿素とウラシルの保持体積を測定した。その結果、4.6 mm × 50 mm のカラムについて 20 ml の二酸化炭素水溶液を通液するとチオ尿素とウラシルの保持体積はいずれも減少して同じ値 (0.3 ml) となった。そこで、このカラムを常温・常圧にして、内部の二酸化炭素を気体として取り出し、その体積を測定して、カラム内に固定化された二酸化炭素量を求めた。この値とカラム内の細孔体積からカラム内での二酸化炭素相の密度を計算したところ、超臨界状態の二酸化炭素の密度と一致した。このことから、本研究で用いた方法によって C18 結合型シリカカラムに超臨界二酸化炭素を固定化できることが明らかになった。

(2) 水 / 疎水性界面の分離機能評価と逆相液体クロマトグラフィーにおける溶質保持機構の解明

逆相系は水溶液中の多様な化合物の分離に最も広く利用されている分離系である。しかし、その分離機構は明らかになっていないのが現状である。これは、従来の方法では水 / 疎水性界面と疎水性物質相の溶質保持への寄与を分割して評価できないことによる。これに対して SBMLC はそれぞれの寄与を個別に測定することを可能にする。

アルキル結合型シリカを充填した SBMLC カラム内のハイブリッド固定相の模式図を Fig. 1 に示す。ハイブリッド固定相を構成するアルキル結合層、疎水界面水、および気相は独立に溶質を保持するので、その保持体積 V_R は次式で与えられる。

$$V_R^S = V_{BW}^S + D_{IW} V_{IW}^S + D_{AC}^{cor} S_C^S + D_G V_G + D_{AE} S_E \quad (1)$$

ここで V_{BW} , V_{IW} , V_G は、それぞれバルク水、水 / アルキル結合層界面の界面水、および気相の体積、 S_C と S_E はアルキル基の総分子表面積とエンドキャップしたシリカの表面積、そして D_{IW} , D_{AC}^{cor} , D_G , D_{AE} は、それぞれの固定相または表面とバルク水間の溶質の分配係数である。上付きの S は SBMLC を示す。一方、RPLC 系における溶質の保持体積は式(2)で与えられる。

$$V_R^R = V_{BW}^R + D_{IW} V_{IW}^R + D_{AC}^{cor} S_C^R + D_{AE} S_E \quad (2)$$

上付きの R は RPLC を示す。

D_G はヘンリー定数 k_H から次式によって求められる。

$$D_G = \frac{k_H}{RT} \quad (3)$$

ここで R は気体定数、 T は絶対温度である。したがって、一つの化合物の保持体積を、同じシリカゲルから調製された C8 および C18 結合型シリカゲルを充填したカラムについて、それぞれ SBMLC と RPLC により測定し、さらにカラム内の各相の体積と表面積を測定することによって、各分配係数を得ることができる。

このうち $\log D_{AC}^{cor}$ と水 / n -ヘキサデカン間の分配係数の対数 $\log P_{C16}$ との相関を Fig. 2 に示す。いずれの化合物についてのプロットも傾き 1 の直線に乗っていることがわかる。また、この直線の切片は、 S_C とアルキル結合層の体積 V_C の比 ($\log V_C / S_C$) に一致している。この結果は、バルク水 / アルキル結合層間の溶質の分配係数は水 / n -アルカン間の分配係数に等しいとみなせること、また本研究で開発した SBMLC と RPLC を用いる方法によって各分配係数を正しく求めることがで

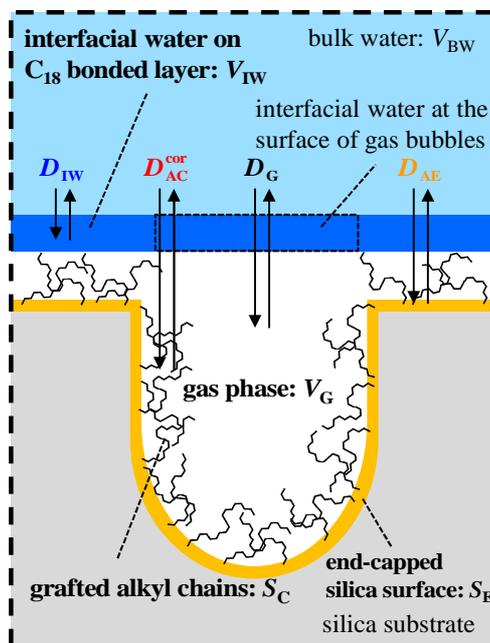


Fig. 1. Schematic illustration of the hybrid separation medium in an SBMLC column packed with a porous alkyl bonded silica.

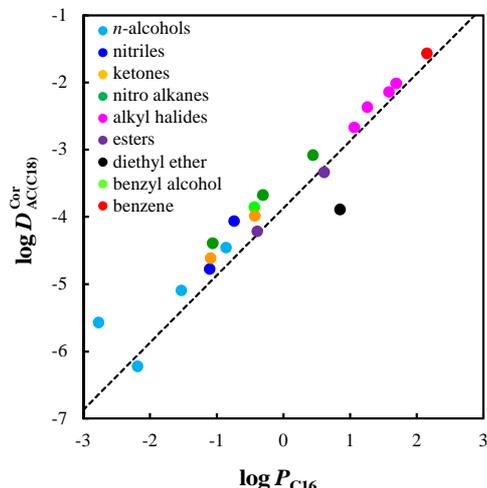


Fig. 2. Values of $\log D_{AC}$ plotted against $\log P_{C16}$.

きることを示している。種々の有機化合物の C18 結合型シリカカラムにおける保持体積に及ぼすバルク水相, 水/アルキル結合層界面, アルキル結合層, およびエンドキャップシリカ表面の寄与を Fig. 3 に示す。多くの化合物は水/アルキル結合層界面に強く保持されているが, 親水性官能基を持たない化合物はアルキル結合層内部にも多く分配することがわかる。また, 一部の化合物についてはシリカ表面における保持も無視できないことが明らかになった。

RPLC においては, 溶質の保持を調整するためにアセトニトリルなどの水溶性有機溶媒を添加することが多いが, 有機溶媒を添加すると単に保持体積が小さくなるだけでなく, 分離挙動が変化することが知られている。しかし, その原因は明らかにされていない。アセトニトリルと水の混合溶媒を移動相とすると疎水表面が濡れるようになるため, 気相の固定化が困難になるが, C18 結合型シリカカラムについて検討を行ったところ, アセトニトリルの体積分率 ϕ_{ACN} が 10 % までであれば細孔内の気相を維持できることがわかった。そこで, 純水系のほか 1 % および 5 % のアセトニトリルを含む水溶液を移動相とした系で SBMLC と RPLC による種々の化合物の保持体積の測定を行って, D_{AC} とバルク水/界面液相間の分配係数 D_{IL} がそれぞれアセトニトリル濃度に依存してどのように変化するかを調べた。得られた結果を Fig. 4 と Fig. 5 に示す。これらの図より, D_{AC} は移動相中のアセトニトリル濃度の変化にほとんど依存しないのに対して, 多くの化合物はアセトニトリルの体積分率の増加に伴っての D_{IL} が著しく減少すること, またその依存性は化合物によって異なることがわかる。 D_{IL} の減少が大きい化合物は水/アルキル結合層界面への保持の寄与が大きい化合物であること, またアセトニトリルも界面への保持が大きいことから, アセトニトリルの界面液相中での濃度が高くなるにしたがって, D_{IL} が小さくなると思われる。したがって, D_{AC} と D_{IL} のアセトニトリル濃度依存性が異

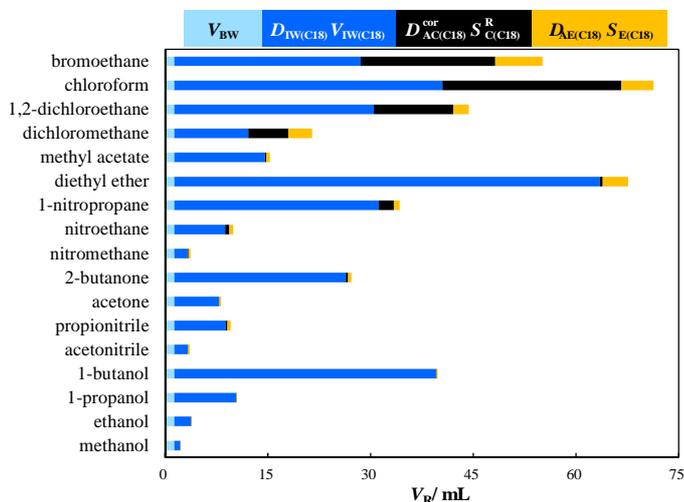


Fig. 3. Contributions of the bulk water (V_{BW}), the interfacial water ($D_{IW}V_{IW}$), the grafted alkyl chains ($D_{AC}^{cor}S_C$), and the end-capped silica surface ($D_{AE}S_E$) to the solute retention on a C18 silica column filled with water. Column: L-column2 ODS. Temperature: 25 °C.

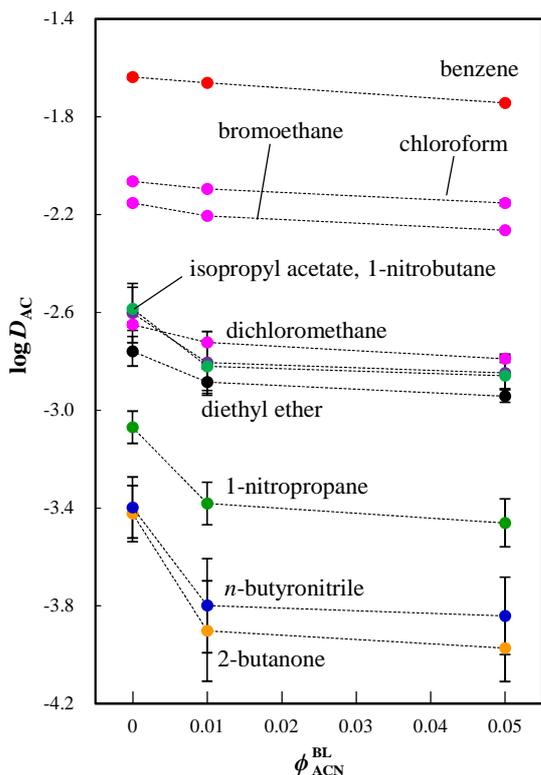


Fig. 4. Dependence of D_{AC} of organic compounds on ϕ_{ACN} .

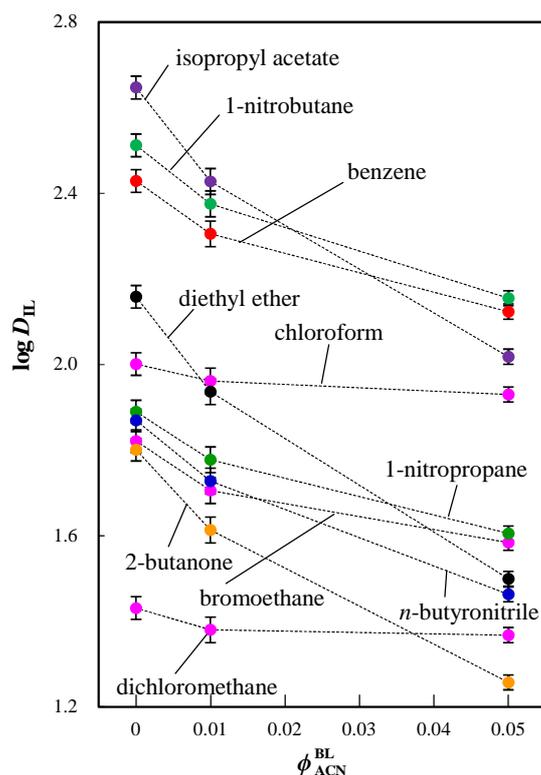


Fig. 5. Dependence of D_{IL} of organic compounds on ϕ_{ACN} .

なることが、アセトニトリルの添加によって分離挙動の変化がもたらされる原因であることがわかった。

(3) ナノ気泡および超臨界流体固定化液体クロマトグラフィーの分離性能評価

気体および超臨界流体は液体に比べて拡散係数が非常に大きいので、ナノ気泡および超臨界二酸化炭素を固定化した SBMLC および超臨界流体固定化 LC は従来の HPLC よりも物質移動によるバンドの広がりを小さく抑制できると推測され、超高速分離法になりうる可能性を有している。そこで、種々の化合物について理論段相当高さを測定し、van Deemter プロットを作成して SBMLC と超臨界流体固定化 HPLC のカラム効率を調べた。その結果、低流速条件下では通常拡散によるピークのブロードニングが著しく、むしろ通常の HPLC よりも分離効率が小さくなることがわかった。一方、高流速条件下では、通常拡散の寄与が抑制され、高い分離効率が得られた。しかし、流速を大きくするとカラムに加わる圧力が大きくなるため、SBMLC では気相体積が小さくなるなどの現象が観測された。これに対して、超臨界流体固定化 LC では高圧下でも超臨界流体相が維持され、高い分離効率を保ちつつ高速分析を行うことが可能であることが明らかになった。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 4 件)

K. Nakamura, S. Saito, M. Shibukawa, Adsorption at water/hydrophobe interface versus partition into the interior of the hydrophobe: quantitative evaluation of the solute retention selectivity at water/hydrocarbon interface, *J. Phys. Chem. C*, **122**(8), 4409-4418 (2018). 査読有.

K. Nakamura, R. Ubukata, H. Mizuno, S. Saito, M. Shibukawa, Effect of acetonitrile on the solute distribution at the heterogeneous interface region between water and hydrocarbonaceous silica revealed by surface-bubble-modulated liquid chromatography, *J. Phys. Chem. C*, **122**(50), 28674-28683 (2018). 査読有.

表面気泡変調液体クロマトグラフィーの開発とその水/疎水性物質界面における溶質分子分布計測への応用, 渋川雅美, *CACS Forum*, No. 8, 6-13 (2017). 査読無.

M. Shibukawa, M. Yanagisawa, R. Morinaga, T. Shimasaki, S. Saito, S. Wang, Y-Q. Feng, Synergistic effect of temperature and background counterion on separation selectivity in ion-exchange chromatography, *RSC Adv.*, **8**, 26849 - 26856 (2018). 査読有.

[学会発表](計 14 件)

M. Shibukawa, K. Nakamura, S. Saito (Keynote Lecture), Adsorption at water/hydrophobe interface versus partition into the interior of the hydrophobe: experimental evaluation of the solute retention selectivity at water/hydrophobe interface, 2018 China-Japan-Korea Symposium on Analytical Chemistry, 2018 年 12 月 1 日, Zhangzhou (China).

M. Shibukawa, K. Nakamura, S. Saito (Invited Lecture), Characterization of the solute accumulation selectivity of water/hydrophobic interfaces by surface-bubble-modulated liquid chromatography, International Conference on Analytical Sciences 2017, 2017 年 5 月 6 日, Haikou (China).

M. Shibukawa, K. Nakamura, S. Saito, Quantitative evaluation of the solute retention selectivity of water-hydrophobic interfaces by surface-bubble-modulated liquid chromatography, 13th Asian Conference on Analytical Sciences, 2016 年 12 月 10 日, Chiang Mai (Thailand).

T. Yamashita, S. Saito, M. Shibukawa, HPLC with supercritical CO₂ stationary phase, 13th Asian Conference on Analytical Sciences, 2016 年 12 月 10 日, Chiang Mai (Thailand).

末井悠友, 半田友衣子, 齋藤伸吾, 渋川雅美, 表面気泡変調液体クロマトグラフィーのカラム効率に及ぼす温度効果, 第 24 回 LC&LC/MS テクノプラザ, 2019 年 1 月 17 日, 横浜情報文化センター(神奈川県横浜市).

中野陽介, 半田友衣子, 齋藤伸吾, 渋川雅美, 表面気泡変調液体クロマトグラフィーによる前濃縮を用いた水試料中の揮発性有機化合物の HPLC 分析, 日本分析化学会第 67 年会, 2018 年 9 月 12 日, 東北大学川内北キャンパス(宮城県仙台市).

水野恒, 齋藤伸吾, 渋川雅美, ポリスチレン樹脂カラムを用いた超臨界流体固定化液体クロマトグラフィー, 第 78 回分析化学討論会, 2018 年 5 月 26 日, 山口大学常盤キャンパス(山口県山口市).

中村圭介, 生形竜介, 齋藤伸吾, 渋川雅美, 表面気泡変調液体クロマトグラフィーによる逆相分離系の溶質分離選択性に及ぼす移動相組成の影響の解明, 日本分析化学会第 66 年会, 2017 年 9 月 10 日, 東京理科大学葛飾キャンパス(東京都葛飾区).

山下貴大, 齋藤伸吾, 渋川雅美, 超臨界 CO₂ を固定相とした HPLC 分離選択性と分離効率の評価, 第 27 回クロマトグラフィー科学会議, 2016 年 11 月 16 日, 慶応義塾大学芝共立キャンパス(東京都港区).

千葉国君, 齋藤伸吾, 渋川雅美, ポリスチレンジビニルベンゼン共重合体樹脂カラムを用いた表面気泡変調液体クロマトグラフィーの研究, 第 27 回クロマトグラフィー科学会議, 2016 年 11 月 16 日, 慶応義塾大学芝共立キャンパス(東京都港区).

中村圭介, 齋藤伸吾, 渋川雅美, 表面気泡変調液体クロマトグラフィーによる逆相分離系における溶質分離選択性に及ぼす充填剤表面化学構造の影響の解明, 日本分析化学会第 65 年会, 2016 年 9 月 16 日, 北海道大学工学部 (北海道札幌市) .

渋川雅美 (日本分析化学会学会賞受賞講演), 水を媒体とする分離場の機能計測と新分離選択性創出に関する研究, 日本分析化学会第 65 年会, 2016 年 9 月 15 日, 北海道大学工学部 (北海道札幌市) .

渋川雅美 (招待講演), 日本分析化学会第 65 年会特別シンポジウム「界面現象を解明する分析化学」, 2016 年 9 月 15 日, 北海道大学工学部 (北海道札幌市) .

渋川雅美 (依頼講演), 表面気泡変調液体クロマトグラフィーの創案と開発 逆相系物質分離機構解明への展開 , 第 23 回クロマトグラフィーシンポジウム, 2016 年 6 月 17 日, 山梨県立図書館 (山梨県甲府市) .

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.apc.saitama-u.ac.jp/bunseki/index.html>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：齋藤 伸吾

ローマ字氏名：SAITO SHINGO

所属研究機関名：埼玉大学

部局名：大学院理工学研究科

職名：教授

研究者番号 (8 桁): 6 0 3 4 3 0 1 8

研究分担者氏名：半田 友衣子

ローマ字氏名：HANDA YUIKO

所属研究機関名：埼玉大学

部局名：大学院理工学研究科

職名：助教

研究者番号 (8 桁): 2 0 5 8 6 5 9 9

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。