

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 6月 7日現在

機関番号：12401  
 研究種目：挑戦的萌芽研究  
 研究期間：2011～2012  
 課題番号：23655062  
 研究課題名（和文）疎水性ナノ空間の高度利用による環境適合型気液ハイブリッド分離システムの設計と構築  
 研究課題名（英文）Development of an environmentally benign gas-liquid hybrid separation system using specific functions of hydrophobic nano-space  
 研究代表者  
 渋川 雅美（SHIBUKAWA MASAMI）  
 埼玉大学・大学院理工学研究科・教授  
 研究者番号：60148088

研究成果の概要（和文）：疎水性ナノ空間に閉じ込められた水はバルク水とは異なる物性を示すことが明らかにされているが、その一方で特異な分離機能を持つ可能性が指摘されている。この分離機能は、それぞれ疎水界面およびナノ空間における水の構造変化を反映するものであると推測される。本研究では、疎水性ナノ空間における究極の水の構造変化ともいえる気相水への状態変化を利用し、疎水性多孔質粒子を担体として、疎水界面液相水と気液界面液相水および気相空間からなるハイブリッド固定相を創成することに成功した。これにより、従来法にない分離選択性を持つ環境適合型分離分析法を確立した。

研究成果の概要（英文）：Water in confined hydrophobic space has attracted considerable interest because its properties could vary considerably from the ones in a bulk phase. We have found that liquid water is forced out of the hydrophobic pores when the pressure on the reversed-phase liquid chromatography (RPLC) columns filled with water is released and the remaining pore space is occupied by the gas phase of water formed as a result of the extreme change in structure of water in hydrophobic nano-space. The gas phase of water is steadily fixed in pores of the packing materials so that it can act as the stationary phase, leading to establishment of a liquid-gas chromatographic system. It was demonstrated that the gas-liquid hybrid stationary phase consisting of the gas phase and the interfacial water has a great potential as a new separation medium for manipulation of retention and separation selectivity in RPLC with aqueous mobile phase.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：気液ハイブリッド固定相・疎水性ナノ空間・疎水界面水・液体クロマトグラフィ

## 1. 研究開始当初の背景

近年ナノメートルから数百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。申請者は、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。これら一連の研究過程で、特に疎水性表面を持つ多孔質粒子内に閉じ込められた水が示す分離機能は、疎水空間内で水がバルク水とは異なる構造をとることによるものであることが示唆された。一方、近年 Davankov らは 4 nm の細孔径を持つポリスチレン樹脂を合成し、これをカラム充填剤として水を移動相とし

て用いた液体クロマトグラフィーにより無機イオンの分離と濃縮ができることを示した。彼らはこの現象を水和イオン半径の差によるサイズ排除効果に基づくものとして説明しているが、研究代表者は、この現象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起因するものであることを明らかにした。さらに最近研究代表者は、疎水性ナノ空間において水が気体に相変化し、これが安定に存在することを見出した。これは疎水界面における水の極限の構造変化を示すものと考えることができる。このような背景に基づき、疎水性ナノ空間を大量にもつ多孔質粒子を担体として、疎水界面液相水と気相空間を制御し、これらのハイブリッド構造を固定相とする液体クロマトグラフィーシステムを構築することによって従来にない新たな分離選択性を生み出すことを着想した。

## 2. 研究の目的

本研究では、疎水性界面とナノメートルサイズの空間という2つの特異性を有する疎水性多孔質粒子を利用して、界面水と気相空間とのハイブリッド分離場を創出し、水だけを分離媒体として用いる新しい環境適合型分離分析法を構築することを目的とした。すなわち、気体と液体のハイブリッド固定相をつくり出し、全く新しい分離選択性を持つ液体クロマトグラフシステムを構築することを第一の目標とした。ついで気液ハイブリッド固定相 HPLC の分離機能を、種々の揮発性の異なる試料化合物を用いて評価することとした。

## 3. 研究の方法

### (1) 逆相 HPLC システム内に残存する有機溶媒成分の分析

カラムは、オクタデシルシリカ (C<sub>18</sub>シリカ) を充填した Cadenza 5CD-C18 (粒子径 5 μm, 細孔径 120 Å, 4.6 mm I. D. × 150 mm) を用いた。カラム溶出液中の有機溶媒成分の分析はガスクロマトグラフィー(GC)によって行った。カラムには、島津製作所製 Thermon-1000 5% Sunpak-A 50~80 を用いた。GC システムは水素炎イオン化検出器(FID)を備えた島津製作所製 GC-2014 を用い、キャリアーガスには He ガスを用いた。

### (2) 気相の固定化

#### ① HPLC

カラム充填剤としては、平均細孔径が 8-30 nm の以下に示す C<sub>18</sub> シリカを用いた。いずれも粒子径は 5 μm, またカラムサイズは 4.6 mm I. D. × 150 mm である。

- ・ Cadenza 5CD-C18 (細孔径 120 Å)
- ・ CAPCELL PAK C18 UG80 (細孔径 80 Å)
- ・ CAPCELL PAK C18 UG120 (細孔径 120 Å)

- ・ CAPCELL PAK C18 UG300 (細孔径 300 Å)
- ・ L-column 2 ODS (細孔径 120 Å)

カラム内への気相の固定化は、水で満たした疎水性多孔質粒子充填カラムの圧力を低下させてナノ気泡を発生させる方法(減圧法)、または揮発性有機溶媒で満たした疎水性多孔質粒子充填カラムを乾燥させた後、水を送液する方法(乾燥法)により行った。

全水相体積  $V_0$  は、移動相に純水を用い、D<sub>2</sub>O をプローブとして、その保持体積から求めた。生成した気相体積は、気相形成前と形成後のカラムの  $V_0$  の差をとることにより求めた。また、移動相体積  $V_m$  は研究代表者が創案した溶離電解質効果法により、NaCl と NaClO<sub>4</sub> を溶離電解質、および IO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, I<sup>-</sup>, SCN<sup>-</sup> をプローブイオンとして測定した。試料化合物の検出は UV-VIS 検出器(波長 220 nm) または示差屈折率検出器を用いて行った。

#### ② 向流クロマトグラフィー

装置は日立東京エレクトロニクス製 J 型高速向流クロマトグラフを用い、カラムとして内径 1.5 mm, 内容量 16.5 ml のテフロンチューブを使用した。移動相には純水を用い、チオ尿素とプロモエタンをプローブとして気相の保持条件を検討した。検出は UV 検出器を用いて行った。

### (3) 気液ハイブリッド固定相 HPLC の分離性能の評価

カラムは Cadenza 5CD-C18 を用い、水で満たしたカラムと気相を生成させたカラムとについて、純水を移動相として、種々の有機化合物の保持体積  $V_R$  を測定した。また、移動相体積  $V_m$  は研究代表者が創案した溶離電解質効果法により、NaCl と NaClO<sub>4</sub> を溶離電解質、および IO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, I<sup>-</sup>, SCN<sup>-</sup> をプローブイオンとして測定した。 $V_R$  と  $V_m$  から保持係数を算出し、気相の有無による分離選択性の相違を評価した。

## 4. 研究成果

### (1) 逆相 HPLC システム内に残存する有機溶媒成分の除去

逆相 HPLC カラムを保存するには有機溶媒でカラムを満たすのが一般的であるが、有機溶媒成分がカラムあるいはカラム以外の HPLC システムに残存していると、純水を移動相とする気液ハイブリッド分離システムにおいて、気相形成量や溶質保持の再現性の低下を招く。そこで、HPLC システム内に残存する有機溶媒成分の除去法について検討した。

まず、カラム内の溶媒を通常カラムを保存する場合の封入溶媒として用いられているアセトニトリルから水に置換する方法を検討した。カラム内溶媒をアセトニトリルから純水に直接置換すると、カラムおよび他の

HPLC システム内からアセトニトリルを除去するのに長時間を要することがわかった。そこで、いったん親水性のより大きなメタノールに置換した後、純水へと段階的に置換していくことによって、アセトニトリルの除去を迅速に行うことができると考え、アセトニトリルで満たされたカラムに 50% (v/v) アセトニトリル/メタノール溶液、メタノール、50% (v/v) メタノール水溶液、および純水を、この順に通液した。その結果、直接アセトニトリルから水に置換するよりも、使用する溶媒量が 1/2 以下で迅速に置換できることがわかった。なお、アセトニトリルやメタノールは、カラム充填剤よりも HPLC ポンプやインジェクターの樹脂製接液部に強く吸着していることが明らかになった。そこで、以後の実験は、有機溶媒の溶出が FID 検出ガスクロマトグラフィーで検出できなくなるまで水で十分に洗浄した HPLC システムを使用し行うこととした。

### (2) 気液ハイブリッド固定相の調製

高圧下疎水性の多孔質粒子に水を満たした後、圧力を解放すると水が細孔内から排出されることがすでに明らかにされている。このとき、細孔内は気相（水蒸気あるいは水に溶解していた気体成分）で満たされていると考えられる。そこでまず、C<sub>18</sub> シリカ細孔内に安定に気相を形成する方法を検討した。

Cadenza 5CD-C18 カラムをメタノールで満たし、ついで 14 MPa の圧力下でこれを水で置換した後、カラムの圧力を開放してからの経過時間に対する 1-プロパノールおよびニトロエタンの保持体積の依存性を 25 °C と 60 °C について調べた。得られた結果を図 1 に示す。時間の経過にもなって両化合物の保持体積は減少し、その後一定値となっていることがわかる。この結果は充填剤細孔内に気相が形成され、液相水が排除されたことによる。60 °C では、両化合物の保持体積が 25 °C よりも急速に減少して一定値に達しており、気相の形成が速いことがわかった。また、この過程で両化合物の保持が逆転していることから、生じた気相によって分離選択性が変化するという極めて興味ある結果が得られることが明らかになった。

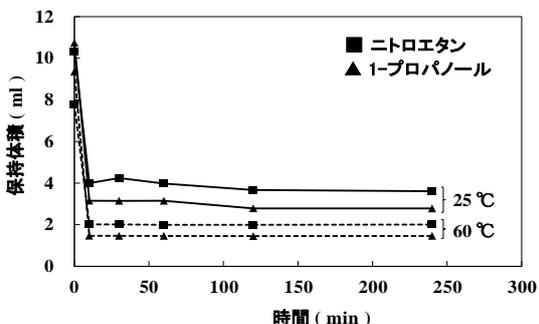


図 1 水を満たした後のカラムにおける圧力解放時間に対する保持体積の依存性

この減圧法で細孔径の異なる充填剤について気相形成量を調べたところ、細孔径が大きいほど気相形成量が減少することがわかった。これは、以下に示す Washburn の式によって説明できる。

$$p = \frac{-2\gamma c \cos\theta}{r} \quad (1)$$

ここで、 $p$  は細孔に液相を留めるために必要な圧力、 $\gamma$  は界面張力、 $\theta$  は接触角、 $r$  は細孔半径を表す。すなわち、細孔径が大きくなると液相水を排除する力が小さくなるために、細孔径の大きな充填剤では気相形成量が小さくなったものと考えられる。

次に、カラムを揮発性有機溶媒で満たし、これを 60 °C に設定した GC 用オープン内で乾燥させた後、純水をカラム内に送液して気相を固定化する方法を試みた。有機溶媒としてはアセトンとジクロロメタンを用いた。その結果、どちらの溶媒を用いた場合でも気相が充填剤細孔内に安定に保持されることがわかった。また、アセトンおよびジクロロメタンのいずれの溶媒を用いて乾燥した場合でも気相形成後のカラムにおける化合物の保持体積には差がないことが確認された。

乾燥法を用いると、細孔径が 120 Å の充填剤であれば、ほぼ細孔内空間のすべてを気相で占めることが可能であった。また、この方法のほうが減圧法に比べて迅速に気相を形成できることから、以後の実験では乾燥法を用いて気相の固定化を行うこととした。

固体充填剤を用いる必要が無い液体クロマトグラフィーである向流クロマトグラフィー (CCC) に着目し、気相をカラム内に固定化して、純粋な液—気クロマトグラフィーの創出を試みた。種々検討の結果、カラム回転速度と移動相流量を最適化することによって、カラム体積の約 40% の気相を保持することに成功した。しかし、送液によって生じる圧力の上昇によって徐々に気相が移動相に溶解することが確認された。CCC による純粋な液—気クロマトグラフィーを確立するためには、固定化した気体を定常的に維持するための条件検討が必要である。

### (3) 気液ハイブリッド固定相を用いる HPLC における溶質保持選択性

Cadenza 5CD-C18 カラムについて、気液ハイブリッド系と気相を含まない系における種々の有機化合物の保持係数  $k$  を比較した結果を図 2 に示す。ここで、 $k$  は以下に示す式 (2) を用いて算出した。

$$k = \frac{V_R - V_m}{V_m} \quad (2)$$

図 2 より、気液ハイブリッド系では気相を含まない系に比べて、固液界面水の減少によってすべての化合物について保持が減少する

が、その減少の程度は一様ではなく、いくつかの化合物の組み合わせについては保持が逆転していることがわかる。移動相(水) - 気相間における化合物の分配係数は、化合物の気相における分圧  $p$  と水溶液中でのモル分率  $X$  の比  $p/X$  に比例する。 $p/X$  は、水溶液中における化合物の無限希釈活量係数  $\gamma^\infty$  と純物質の蒸気圧  $p^*$  を用いて以下の式(3)のように表すことができる。

$$\frac{p}{X} = \gamma^\infty p^* \quad (3)$$

そこで、気液ハイブリッド系における  $\log k$  と  $\log \gamma^\infty p^*$  との関係調べたところ、 $\gamma^\infty p^*$  値が大きい化合物ほど保持係数が大きいことがわかった。この結果は、気液ハイブリッド系においては、気液分配が溶質の保持に大きく寄与していることを示している。

以上のように、本研究によって、疎水性充填剤細孔内に気相を形成させ、疎水性表面に存在する固液界面水とのハイブリッド固定相による気液ハイブリッド分離システムを実現した。このシステムにおける溶質保持機構は気液分配を含み、通常の逆相 HPLC とは異なる分離選択性を持つことがわかった。気液ハイブリッド分離システムでは、カラムに加える圧力を変えることによって、気相と固液界面水の量を調節することができ、それによって容易に分離選択性を変化させることが可能であることも明らかになった。

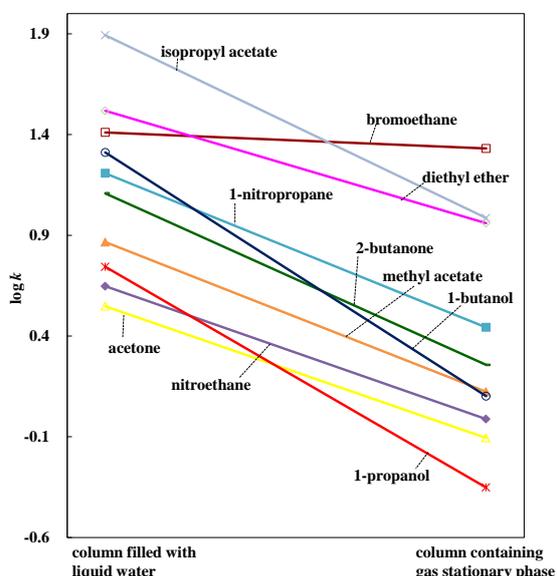


図 2 気相の生成による試料化合物の保持係数の変化

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 件)

- ① K. Shimizu, H. Kuribayashi, H. Watanabe, T. Shimasaki, K. Azuma, K. Saitoh, S. Saito, M.

Shibukawa, Multistep pH-Peak-Focusing Countercurrent Chromatography with a Polyethylene Glycol- $\text{Na}_2\text{SO}_4$  Aqueous Two Phase System for Separation and Enrichment of Rare Earth Elements, *Anal. Chem.*, **85**, 978-984 (2013).

[学会発表] (計 9 件)

- ① M. Shibukawa, H. Okutsu, S. Saito (Keynote Lecture), Evaluation of Composition of the Solvated Liquid Layer Functioning as the Stationary Phase on Alkyl-Bonded Silica Surfaces, 29th International Symposium on Chromatography, 2012 年 9 月 12 日, Torun (Poland).
- ② M. Shibukawa (Keynote Lecture), Liquid Chromatography with a Gas-Liquid Hybrid Stationary Phase, 2011 China-Japan-Korea Symposium on Analytical Chemistry, 2011 年 11 月 1 日, Jeju (Korea).
- ③ M. Shibukawa (Invited Lecture), Selectivity Manipulation of Separation in Reversed-Phase Liquid Chromatography with Gas-Liquid Hybrid Stationary Phases, International Conference on Analytical Sciences 2011, 2011 年 5 月 24 日, 京都.
- ④ 仲村大樹, 近藤善紀, 齋藤伸吾, 渋川雅美,  $\text{C}_{18}$  化学結合型シリカゲル細孔内における水の状態変化を利用した液-気分離系の構築, 第 16 回 LC テクノプラザ, 2011 年 5 月 12 日, 北とびあ (東京).
- ⑤ 仲村大樹, 近藤善紀, 齋藤伸吾, 渋川雅美, 疎水性細孔空間を利用した気液ハイブリッド分離システムの構築, 日本分析化学会第 60 年会, 2011 年 9 月 15 日, 名古屋大学東山キャンパス(名古屋).
- ⑥ 仲村大樹, 中村圭介, 齋藤伸吾, 渋川雅美, 疎水性ナノ細孔空間を利用した気液ハイブリッド分離システムの構築—純水を移動相とする RPLC のためのカラム洗浄法の検討, 日本分析化学会第 61 年会, 2012 年 9 月 20 日, 金沢大学角間キャンパス(金沢).

ほか 3 件

[その他]

ホームページ等

<http://sucra-rd.saitama-u.ac.jp/search/home.do>

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

渋川 雅美 (SHIBUKAWA MASAMI)

埼玉大学・大学院理工学研究科・教授

研究者番号: 60148088