

氏名	中村 圭介		
博士の専攻分野の名称	博士（工学）		
学位記号番号	博理工甲第 1055 号		
学位授与年月日	平成 29 年 3 月 22 日		
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
学位論文題目	Study on the retention mechanism in reversed-phase separation systems by liquid chromatography with a gaseous stationary phase (気体固定相を有する液体クロマトグラフィーを用いた逆相分離系の溶質保持機構に関する研究)		
論文審査委員	委員長	教授	洪川 雅美
	委員	教授	中林誠一郎
	委員	准教授	齋藤 伸吾
	委員	教授	山口 祥一

## 論文の内容の要旨

疎水性ナノ細孔を持つ多孔質材料は逆相液体クロマトグラフィーや固相抽出などの分離法に用いられている。これらの逆相分離法は水溶液中の化合物の分離と濃縮に広く用いられているが、その分離機構はいまだに解明されていない。一方、疎水性多孔質粒子を水に浸すと細孔内に気泡が安定に存在することが報告されている。この現象は細孔内から水が排除されることを示しており、気泡の安定性は細孔の毛管圧で説明できる。この現象を利用し、細孔内に気相を固定化することによって、気相を固定相の一部とする液体クロマトグラフィー（LC）を創出できると考えられる。細孔内への気相の固定化は、逆相分離系において固定相として機能する水／疎水性材料界面と疎水性材料を分割し、ハイブリッド固定相を創り出す。さらに、気相の体積は圧力によって容易に制御できるため、気体固定相の体積だけでなく水／疎水性材料界面の面積も圧力によって制御可能である。このことは、圧力によって分離選択性を変換できる新規液体クロマトグラフィーが実現可能であることを示している。また、この方法は疎水性材料自体の量を一定に保ちながら水／疎水性材料界面と気相の量を調節できるので、水／疎水性材料界面、疎水性材料および気相への化合物の分配係数を測定することが可能である。したがって、これにより逆相分離系における溶質保持機構を解明することができると考えられる。

以上の着想に基づいて、気相をカラム内に固定化した LC の開発を行った。カラムには  $C_{18}$  結合型シリカ ( $C_{18}$  シリカ) を充填したカラムを用いた。 $C_{18}$  シリカカラム内の充填剤をあらかじめ乾燥し、純水を通液することにより充填剤細孔内に気体を固定化した。気相形成後のカラムに加える圧力を調節することでカラム内の気相体積および全液相水体積の大きさを任意に調節することに成功した。また、圧力の増大に伴って水と疎水部の接触面積が大きくなるとともに、有機化合物の保持時間が大きく増大することから、有機化合物の保持において最も大きく寄与しているのは水／ $C_{18}$  層界面であることがわかった。さらに、試料化合物の溶出順は圧力とともに大きく変化したことから、水／ $C_{18}$  層界面、 $C_{18}$  層および気相への分配係数の値が試料化合物ごとに異なることを明らかにした。この HPLC 法を表面気泡変調液体クロマトグラフィー (Surface-

Bubble-Modulated Liquid Chromatography : SBMLC) と命名した。

次に上述の溶出順の変化を解明するために、バルク水と水/ $C_{18}$ 層界面間の分配係数 $D_{IW}$ 、水-気相間の分配係数 $D_G$ および水-疎水性材料間の分配係数 $D_C$ を個別に測定した。なお $D_{IW}$ は、無機イオンを用いて測定した疎水性材料表面近傍の水(界面水)への分配係数として求めた。その結果、アルコールなどの親水基をもつ化合物は $C_{18}$ 層を分離場としてほとんど認識しておらず、主に界面水に分布しているのに対して、ベンゼンなどの疎水性の高い化合物は $C_{18}$ 層内にも分布していることがわかった。また、溶出順の変化は、水/ $C_{18}$ 層界面、気相および $C_{18}$ 層の量比が変化するためであることを明らかにした。

逆相分離系では分離選択性の変換を狙い、疎水性材料表面の化学構造を様々に変化させる試みがなされているが、表面化学構造の違いによって分離選択性が変化する機構は明らかになっていない。そこで、表面化学構造の異なる化学結合型シリカ粒子を用いた逆相系において、 $D_{IW}$ および $D_C$ を測定し、充填剤表面の化学構造の違いによって分離選択性が変化する機構の解明を試みた。カラムにはフェニルヘキシル(C6-Ph)シリカカラムおよびフッ化アルキル結合型(FC)シリカカラムを用い $D_{IW}$ および $D_C$ を測定した。さらに、水と疎水性材料および水と試料化合物との間の界面張力の値を基に水/疎水性材料界面における溶質保持機構を考察した。その結果、試料化合物の水/疎水性物質界面への分配は、試料化合物の界面への吸着に伴う界面張力の低下に基因しており、 $D_{IW}$ の値は疎水性材料と水との間の界面張力に依存することが示唆された。また、 $D_C$ の値をカラム間で比較した。その結果、化合物ごとの $D_C$ の値は疎水性材料の化学構造によって変化することがわかった。このように、逆相分離系において、疎水性材料の構造を変化させることで、疎水性材料自身への分配による分離選択性が変化するだけでなく、水との界面の分離選択性も変化することがわかった。

以上のように気相を含む複数の相と界面が構成するハイブリッド固定相を構築し、気液分配を分離の駆動力に加えた従来にない新しい分離選択性をもつ分析法を創出することで、これまで解明されていなかった水/疎水性材料間における溶質分子の分布を明らかにした。本研究で得られた知見は、逆相分離系の理解を大幅に更新するものであり、また気体固定相の特性を生かすことでSBMLCによる揮発性化合物の高速高分離が可能であると期待される。

## 論文の審査結果の要旨

本学位論文は、気体を固定相とするこれまでに報告のない液体クロマトグラフィーの創出と、その水／疎水性物質界面における物質分離機構の解明に関する研究をまとめたものである。水と疎水性物質との界面は、疎水性相互作用を利用した水溶液中の試料化合物の分離など様々な化学プロセスにおいて重要な役割を果たしている。特に、疎水性表面近傍の水の構造や物性は、疎水性相互作用の本質に関わるものとして注目されており、最近、分光学的方法によって疎水界面における水分子の配向や水素結合性などが明らかになっているが、水／疎水性物質界面における物質分離を定量的に評価した研究は報告されていない。本研究は、気体を固定相とする液体クロマトグラフィーを開発し、これを用いて水／疎水性物質界面と疎水性物質内部への物質分配を測定し、その分離機能を明らかにすることを目的としたものである。

第1章では、気体固定相を有する液体クロマトグラフィーを用いることによって逆相分離系の溶質保持機構を解明できるとする論拠が述べられている。疎水性多孔質粒子を水に浸すと細孔内に気泡が安定に存在することが報告されている。この現象は細孔内から水が排除されることを示しており、気泡の安定性は細孔の毛管圧で説明できる。この現象を利用し、細孔内に気相を固定化することによって気相を固定相の一部とする液体クロマトグラフィーを創出できる。細孔内への気相の固定化は、逆相分離系において固定相として機能する水／疎水性物質界面と疎水性物質自体とを分割し、ハイブリッド固定相を創り出す。さらに、気相の体積は圧力によって容易に制御できるため、気体固定相の体積だけでなく水／疎水性物質界面の面積も圧力によって制御可能である。このように、気体固定相を有するLCは疎水性物質の量を一定に保ちながら水／疎水性物質界面と気相の量を調節できるので、水／疎水性物質界面、疎水性物質および気相への化合物の分配係数を測定することが可能である。したがって、これにより逆相分離系における溶質保持機構を解明することができる。

第2章では、気体をカラム内に固定化した液体クロマトグラフィーの開発について述べられている。あらかじめ乾燥したC<sub>18</sub>シリカカラムに純水を通液することによってカラム内に気体を固定できること、また、気相形成後のカラムに加える圧力を調節してカラム内の気相および液相水の量を任意に変えることができることを明らかにした。さらに、圧力の増大に伴って水と疎水部の接触面積が大きくなるとともに、有機化合物の保持時間が大きく増大することから、有機化合物の保持において最も大きく寄与しているのは水／C<sub>18</sub>結合層界面であることを明らかにした。さらに、試料化合物の溶出順が圧力とともに大きく変化したことから、水／C<sub>18</sub>層界面、C<sub>18</sub>層および気相への分配係数の値が試料化合物ごとに異なることが明らかになった。この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 (Surface-Bubble-Modulated Liquid Chromatography : SBMLC) と命名された。

第3章では、アルキル結合型シリカ充填剤を用いた逆相分離系における溶質保持機構を、SBMLCにより解明した研究成果について記述されている。バルク水と水／C<sub>18</sub>結合層界面間の分配係数 $D_{IW}$ 、水-気相間の分配係数 $D_G$ および水-疎水性物質間の分配係数 $D_C$ を測定したところ、アルコールなどの親水基をもつ化合物はC<sub>18</sub>結合層を分離場としてほとんど認識しておらず、主に界面水に分布しているのに対して、ベンゼンなどの疎水性の大きな化合物はC<sub>18</sub>結合層内にも分布していることがわかった。また、溶出順の変化は、水／C<sub>18</sub>結合層界面、気相およびC<sub>18</sub>結合層の量比が変化するためであることを明らかにした。ここで、逆相分離系に用いられる化学結合型シリカの表面にはシリカ表面に存在するシラノール基の分離への影響を防ぐためにこれを被覆する加工 (エンドキャッピング) が施されている。しかし、エンドキャッピングが施されたシリカ表面の溶質保持への寄与は未だに明らかにされていない。そこで、C<sub>18</sub>シリカと炭素鎖長が異な

る  $C_8$  シリカを用いて  $C_{18}$  結合層への分配による溶質保持をさらに分割し、溶質の炭化水素層への分配係数  $D_A$  とエンドキャッピングが施されたシリカ表面への分配係数  $D_E$  として評価した。その結果、極性官能基を持つ化合物は  $C_{18}$  結合層の中では主にシリカ表面に分布していること、また、疎水性の高い化合物は主に炭化水素層に分布していることがわかった。このように、エンドキャッピングが施されたシリカ表面は炭化水素層とは異なる分離選択性を示すことを明らかにした。

第4章では、逆相分離系における溶質の分離選択性が充填剤表面の化学構造によって変化する機構を解明した研究成果について述べられている。フェニルヘキシルおよびフルオロアルキル結合型シリカカラムについて  $D_{1W}$  および  $D_C$  を測定し、充填剤表面の化学構造によって分離選択性が変化する機構の解明を試みた。その結果、アルキル基とフルオロアルキル基はそれぞれの水との界面において全ての試料化合物に対してほとんど同じ親和性を持つことがわかった。これに対して、水とフェニルヘキシル基の界面は水とアルキル基の界面と比較して、疎水性の高い分子に対して非常に小さな親和性を示すことが明らかとなった。この結果より、水とフェニルヘキシルシリカとの界面では、フェニルヘキシル基のベンゼン環が水と接する方向に配向することによって、その他の充填剤と比較して水と充填剤表面間の界面張力が低下していることが示唆された。さらに  $D_C$  の値をカラム間で比較したところ、フェニルヘキシル基への分配はアルキル基への分配と同じ溶質分離選択性を示した。これに対して、フルオロアルキル基への分配はアルキル基への分配とは全く異なる分離選択性を示すことが分かった。このように逆相分離系において、疎水性物質の構造を変化させることによって、疎水性物質自身への分配による分離選択性だけでなく、水／疎水性物質界面の分離選択性も変化することを明らかにした。

本論文は長年議論が続いていた界面吸着と分配のいずれが逆相系分離の主要因かという問題に対して初めて回答を与えるものである。また、これまで困難であった水と疎水性物質の境界における分子の分布に関する知見を得ることに成功した。さらに、開発した表面気泡変調液体クロマトグラフィーは圧力によって溶質分離選択性を劇的に変換できるほか、水／疎水性物質界面と疎水性物質内部への物質分配を定量的に測定できるという特筆すべき特徴をもつことが明らかにされた。以上により、本論文は博士（工学）の授与にふさわしいものと判断し、学位論文審査委員会は合格と判定した。