

氏名（本籍）	高山 信幸（滋賀県）
学位の種類	博士（工学）
学位授与番号	甲第517号
学位授与日付	平成29年3月25日
専攻	物質工学専攻
学位論文題目	Development of polar stationary phases and investigation of retention behavior in capillary liquid chromatography （キャピラリー液体クロマトグラフィーにおける極性固定相の開発と保持挙動の解明）
学位論文審査委員	（主査）教授 瀬瀬 守 （副査）教授 竹内 豊英 准教授 リム リーワ

論文内容の要旨

クロマトグラフィーはロシアの植物学者 Mikhail Semonovich Tswett によって 1903 年に発明された。彼は炭酸カルシウムでクロロフィルを分離したが、吸着機構に基づいた最初の分離であった。それ以来、多くの分離技術が登場し開発されてきた。クロマトグラフィーは分析分野では欠くことのできない方法となっている。クロマトグラフィーは移動相と固定相間の相互作用を利用した分離方法である。これらの相は物理的状态によって分類される。すなわち、固体、液体、気体である。液体クロマトグラフィーでは試料成分はキャリアーに溶解しなければならないが、液体移動相は他の何よりもよく適合する。

キャピラリー液体クロマトグラフィーの開発以来、同じ分析がより少量の溶媒と試料の消費で可能になっている。それに対し、液体クロマトグラフィーの性能はシステムのダウンサイジングによって低下している。たとえば、温度変化などの周囲の変化によって容易に影響を受ける。それにもかかわらず、キャピラリー液体クロマトグラフィーの利点、すなわち移動相および固定相の消費量の減少、廃液の減少を有する。その低コストおよび環境にやさしい特徴は、研究が実験室で行われるところでは新規の固定相の開発を促す。キャピラリーに基づいた技術の達成は、科学者にクロマトグラフィーの手法の開発や改善を容易に研究させる。固定相の合成の研究は複雑な分離を最適化するために行われてきた。モノリスカラムは充填型カラムによってもたらされる問題点を解決するブレイクスルーを提供する。モノリスカラムはスルーポアとスケルトン上のメソポアをもち、この二重細孔の特徴がクロマトグラフィーの測定において背圧を減少させる。モノリスカラムは一般的に2つのタイプに分類される。すなわちポリマーベースとシリカベースである。ポリマーベースモノリスカラムは簡単な重合によって合成され、広い pH 範囲で使用できる。ポリマーベースモノリスカラムはモノマー、架橋剤および細孔形成剤によって調製される。多くの薬品が使用され、期待される構造と官能基が導入される。シリカベースカラムはゾルゲル法によって調製される。

イオンクロマトグラフィーにおいて固定相表面上の電荷をもった官能基がイオン交換機構の重要な点である。一般的にイオン性分析種は静電相互作用によって保持される。固定相に静電力を導入するにはいくつかの方法がある。双性型の官能基は陰陽両イオンを引きつけることができると考えられるが、反発もする。本研究では、双性型の試薬を固定相に結合することに成功している。また、双性型界面活性剤やイオン対試薬は、疎水性固定相にコーティングした。双性型固定相におけるイオン性分析種の保持機構は非常に複雑で同じカラムで陰陽両イオンの分離も可能である。

双性型固定相のもう一つのおもな応用は親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC) である。HILIC は実際試料分析には非常に有用である。HILIC モードによって逆相液体クロマトグラフィーで保持されない試料も分離できる。極性構造をもった固定相は HILIC モードに応用できる。これらの極性構造は水層を形成し、親水性試料が分配によって保持される。

本研究では HILIC 用各種固定相が HILIC 条件下で無機陰イオンの保持機構を示すのに使用された。静電的相互作用と親水性分配が HILIC 条件下で陰イオンの分離に競争的に作用することを明らかにした。双性型モノリスカラムの開発と陰陽両イオンの分離の研究がなされた。反応条件ならびにモノマー、架橋剤および細孔形成剤の比が最適化された。

論文審査結果の要旨

本研究は、キャピラリー液体クロマトグラフィーにおける極性固定相の開発と保持挙動の解明に関して行ったもので5章からなる。

第1章では、クロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、双性型固定相、モノリスカラム、親水性相互作用クロマトグラフィー(HILIC)、およびキャピラリー液体クロマトグラフィーの特徴について述べている。最後に本研究の目的について述べている。

第2章では、HILICにおける無機陰イオンの保持挙動について述べている。イオン交換モードとHILICモードでは陰イオンの溶出順が逆転することを見いだしている。20 mM 塩化ナトリウムまたは20 mM 過塩素酸ナトリウムを含む70%アセトニトリル水溶液を移動相として用いると、前者の保持の方が短くなっている。これは高濃度のアセトニトリルのために塩化物イオンと過塩素酸イオンの脱水和が起こり、塩化物イオンの半径が過塩素酸イオンより小さくなりイオン交換基とより強く相互作用するためと考えられる。また、塩濃度を変えて保持を測定すると、試料イオンの保持係数の対数と塩濃度の対数の間に直線関係が得られている。その傾きは理論値である-1よりも大きく、イオン交換以外の保持機構が作用していることが示唆される。また、移動相中のアセトニトリルの濃度を変化させると、アセトニトリルの濃度の増加とともに試料陰イオンの保持が増大し、60%以上で分離が達成されている。この保持挙動はHILICモードと一致する。

第3章では、キャピラリーイオンクロマトグラフィーにおける双性型モノリスカラムを調製し、その分離挙動について検討している。双性型固定相は、*N,N*-ジメチル-*N*-(3-メタクリルアミドプロピル)-*N*-3-(スルホプロピル)アンモニウムベタインおよびエチレングリコールジメタクリレート熱共重合によって調製した。また、別のモノマー2-メタクリロイルオキシエチルフォスホリルコリンもフォスホリルコリンタイプの双性型モノリスカラムの調製に用いた。調製したスルホベタイン型双性型モノリスカラムは市販の双性型固定相であるZIC-HILICよりも試料陰イオンに対して大きな保持を示し、入口圧力も1/4程度となった。カラム性能もモノリスカラムの方がすぐれていた。各種塩化物を移動相として用いたところ、より保持の大きな陽イオンを対イオンとして移動相に用いたときに試料陰イオンの保持が伸びることを観察している。これは、固定相の負電荷により強く相互作用する陽イオンほど固定相の負電荷の反発力を減少させることから理解できる。また、移動相に酸を加えた際にも試料陰イオンの保持が増大することが観察されたが、プロトンが固定相の負電荷を遮蔽すると考えることができる。双性型固定相は陽イオンも保持し、マグネシウムイオンとカルシウムイオンを保持分離することができた。ただし、1価の陽イオンはすべて同じ時間に溶出した。

フォスホリルコリン型モノリスカラムについても保持挙動を検討した。その結果、分離選択性はスルホベタイン型固定相より劣ることが観察されている。

第4章では、その他の双性型固定相の調製について述べている。シリカゲルにグリシジル基を導入後、ジエチルアミンまたはジメチルアミンとの反応で三級アミノ固定相を調製した後、1,3-プロパンスルトンによりスルホ基を導入し双性型固定相を調製している。また、双性型界面活性剤を疎水性充填剤に物理的にコーティングすることによって双性型固定相を調製している。双性型界面活性剤をコーティングした固定相により陰イオンを分離することができている。酸性条件下にすると試料陰イオンの保持が伸びるのは外側の陽イオン交換基の負電荷をプロトンが遮蔽するためだとしている。同固定相では陽イオンの保持は観察されなかった。ジエチルアミンと1,3-プロパンスルトンで調製した双性型固定相では2価の陽イオンは保持分離できたが、1価の陽イオンは保持されなかった。これは固定相の四級アンモニウム基の正電荷による反発が原因と考えている。

第5章では、本研究の結論および将来の展望について述べている。

最終試験結果の要旨

3名で構成する審査委員会は、本論文および論文別刷り等を慎重に検討した結果、提出された発表論文2編は国内の英文論文誌に掲載予定であり、2編とも申請者が各論文の主要な部分に携わっている。また、本論文は学位論文として十分に完成された内容を有していることを確認した上で、最終試験(公聴会)を2月9日に開催し審査した結果、合格と判定した。

なお、審査委員会は、各既発表論文を申請者の学位論文の主論文とすることについて、各論文共著者の承諾があることも併せて確認している。

発表論文(論文名, 著者, 掲載誌名, 巻号, ページ)

1. Nobuyuki Takayama, Lee Wah Lim and Toyohide Takeuchi: Retention behavior of inorganic anions in hydrophilic interaction chromatography. Anal. Sci., in press.
2. Nobuyuki Takayama, Lee Wah Lim and Toyohide Takeuchi: Optimization and investigation of zwitterionic monolithic stationary phases for ion chromatography, Anal. Sci., in press.