

高極性化合物の前処理に適応可能な親水性高分子被覆型 固相抽出剤の開発

[研究代表者] 村上博哉 (工学部応用化学科)

[共同研究者] 手嶋紀雄 (工学部応用化学科)

研究成果の概要

分析機器の高性能に伴い、特に前処理および分離分析技術の機能向上を求める需要は、近年より一層高まっている。複雑なマトリックス成分が共存する中から極微量の目的成分の定量を可能にするには、適切な前処理が必要不可欠である。その前処理手法としては、幅広い化合物への適用が可能である固相抽出法が注目されている。固相抽出法は、逆相やイオン交換、キレート形成などの様々な分離モードを有する固相抽出剤を筐体に充填し、その筐体に試料溶液を通液することで、前処理を行うものである。中でも逆相系固相抽出剤は、広範な化合物への適用が可能であることから、固相抽出剤の第一に選択される分離モードである。一方、生体試料分析などにおいて高い需要のある高水溶性化合物の捕捉については、逆相系固相抽出剤の主相互作用が疎水性相互作用であるため捕捉が困難である。しかし、それらに適用可能な分離モードを有する固相抽出剤の選択肢はほぼ存在せず、高極性化合物の前処理を可能にする固相抽出剤の開発が望まれている。

そこで本研究では、親水性化合物の分離において有効である親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC) モードを発現可能な HILIC 型固相抽出剤の開発を目指し研究を進めた。基材樹脂にポリエチレンイミン類などを被覆した固相抽出剤を合成し、それらの捕捉特性について精査した結果、高極性化合物に対し高い捕捉能を有する HILIC 型固相抽出剤の開発を達成した。

なおここに記載する研究成果は、高い学術性を有する研究内容であったことから、日本分析化学会の学術誌である「Analytical Sciences」誌に投稿し、掲載された内容である。ここではその一部について紹介する。

研究分野：分離分析、前処理

キーワード：固相抽出、親水性相互作用クロマトグラフィー、水溶性化合物

1. 研究開始当初の背景

測定機器の高性能化に伴い、従来では測定が困難であった化合物の検出・定量が可能になってきている。その結果、測定対象となる化合物が広範となり、求められる定量分析手法はより高度化してきている。その定量を可能にするために、測定機器に供する前段階である前処理が、一層重要視されている。その前処理手法として近年、固相抽出法が汎用されている。固相抽出法は、逆相系固相抽出剤やキレート樹脂、イオン交換樹脂など様々な分離モードを有する樹脂を筐体に充填し、その筐体に試料溶液を通液することで、前処理を達成する。当研究室でも、

既存の固相抽出技術および固相抽出剤では、現状の定量分析の需要へ応えることには限界があると考え、固相抽出剤の高性能化について研究を進めてきている。中でも生命科学分野や環境分野において、高い極性を有する化合物の定量手法の開発は必要不可欠であることから、高極性化合物の捕捉を可能にする逆相系固相抽出剤の高性能化について研究を進めてきた。その結果、市販品の逆相系固相抽出剤よりも高極性化合物の捕捉能を有する逆相系固相抽出剤の開発を達成している。その一方で、これらの研究により非常に高い極性を有する化合物に対しては、逆相系固相抽出剤の主相互作用が疎水性相互

作用であるため、捕捉は困難であることか明らかとなり、その他の分離モードを有する固相抽出剤の開発が必要であることを認識した。

そこで本研究では、液体クロマトグラフィーにおいて高極性化合物の分離に用いられている分離モードである親水性相互作用クロマトグラフィー (HILIC) に注目した。液体クロマトグラフィーにおける HILIC モードの利用は、逆相モードでは分離が困難な高極性化合物などに適用が可能であることから、近年幅広い分野において利用されている。その一方で、固相抽出法においては、HILIC モードを利用した前処理に関する報告はそれほど多くない。その理由の一つに、HILIC 用に最適化された固相抽出剤がそれほど存在しないことが理由にあると考えられる。一方で高極性化合物の定量分析が必要である場面は多く、今後、より一層 HILIC モードを発現可能な HILIC 型固相抽出剤は必要不可欠になっていく。

2. 研究の目的

そこで本研究では、高極性化合物の捕捉を可能にする HILIC モードを発現可能な HILIC 型固相抽出剤の開発を目的とし、研究を進めた。

3. 研究の方法

研究の方法としては、親水性高分子を被覆するための基材樹脂として、親水性高分子を被覆するための反応点を有しているグリシジルメタクリレート (GMA) と架橋剤としてエチレングリコールジメタクリレート (EGDM) とトリメチロールプロパントリメタクリレート (TMPT) をそれぞれ選択し、これらモノマーを混合し、懸濁重合により各種基材樹脂を合成した (Fig. 1)。

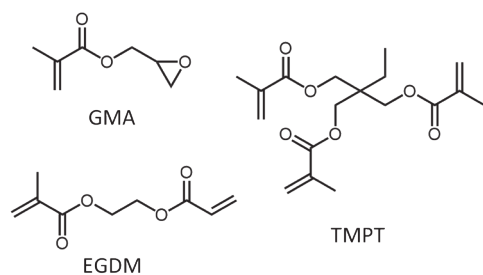


Fig. 1 基材樹脂に用いたモノマーの構造

合成した基材樹脂について、各種ポリエチレンイミン類を被覆することで、HILIC モードを発現可能な固相抽出

条件下において、その捕捉特性を精査した。

4. 研究成果

懸濁重合により得られた GMA/EGDM および GMA/TMPT をそれぞれ含有した基材樹脂について、細孔物性などを測定したところ、GMA/TMPT のほうが高い比表面積を有することが明らかとなった。

得られたそれぞれの基材樹脂について、様々なポリエチレンイミン類を被覆することで、HILIC モードでの固相抽出特性について評価を行った。その結果、分子量 10,000 のポリエチレンイミンを被覆した樹脂が、高い捕捉特性を有することが明らかとなった。さらに分子量 10,000 のポリエチレンイミンに着目し、その被覆量の改善を目的して反応条件の最適化についても検討を行った。その結果、被覆量の増加により、より高い捕捉能を有することが明らかとなった。

以上のように本研究では、親水性高分子としてポリエチレンイミン類を採用し、新規の HILIC 型固相抽出剤の開発を進めた。本研究で得られた知見は、従来法では捕捉が困難であった高極性化合物の捕捉を可能にする可能性があり、現在、液体クロマトグラフータンデム型質量分析装置 (LC/MS/MS) を用いたい高感度分析法の確立へ適用可能であり、今後さらなる応用展開を進めていく予定である。

5. 本研究に関する発表

【投稿】

H. Murakami, K. Iida, Y. Oda, T. Umemura, H. Nakajima, Y. Esaka, Y. Inoue, N. Teshima, "Hydrophilic interaction chromatography-type sorbent prepared by the modification of methacrylate-base resin with polyethyleneimine for solid-phase extraction of polar compounds", H. Murakami, K. Iida, Y. Oda, T. Umemura, H. Nakajima, Y. Esaka, Y. Inoue, N. Teshima, *Anal. Sci.* 39, 375-381, 2023.

【ポスター発表】

小田勇輝、飯田圭祐、江坂幸宏、井上嘉則、村上博哉、手嶋紀雄、“ポリエチレンイミン被覆 HILIC 型固相抽出剤における極性化合物の捕捉特性評価”、第 39 回分析化学中部夏期セミナー、2022 年