

〈一般研究課題〉 環境管理の簡便化・高感度化を支援する
前処理用吸着媒体の創成
助成研究者 愛知工業大学 村上 博哉



環境管理の簡便化・高感度化を支援する 前処理用吸着媒体の創成

村上 博哉
(愛知工業大学)

Development of Pretreatment Adsorption Media for the Quantitative Analysis of Environmental Sample

Hiroya Murakami
(Aichi Institute of Technology)

Abstract :

Solid-phase extraction (SPE) has been widely used for the pretreatment of quantitative analysis. In SPE, particulate sorbents for SPE packed into a cartridge were generally applied for the extraction of target compounds with the elimination of contaminants. The shape of commercially available SPE sorbents is usually particle, which is difficult of handling due to static electricity or agglutination. To improve the troublesome handling of a particulate sorbent, the development of the molding method by bonding between particulate sorbents has been desired. Moreover, the technique of fabricating the adsorption media leads to the expansion of the pretreatment method.

In this study, I studied a novel molding method of the particulate sorbents for SPE. Chemical binding between particulate sorbents was used for molding particulate sorbents using reactive polymers. The molding conditions of particulate sorbents modified with polyethyleneimine and the amount ratio of each reactive polymer were optimized. The obtained adsorption media have almost the same adsorption property for polar of compounds as the corresponding particulate sorbent. Moreover, the adsorption media also have the adsorption of copper(II) by polyethyleneimine. The developed adsorption media are useful one for the pretreatment of SPE.

1. はじめに

機器分析などを利用した定量分析では、機器分析に供する前に適切な前処理を行うのが一般的である。その前処理手法としては、固相抽出法が汎用的に利用されている¹。固相抽出法は、固相抽出剤が充填されたカートリッジに試料溶液を負荷することによって、過剰に存在する夾雑成分から微量な目的成分を抽出することを可能にする。その固相抽出剤としては、逆相、順相、イオン交換やキレート樹脂など種々の分離モードが付与されたものが利用されており、さまざまな目的成分の抽出を可能にしている。当研究室ではこれまでに、前処理技術の高性能化には、固相抽出剤の高性能化・高機能化が必要不可欠であると考え、粒子状固相抽出剤の高性能化に関する研究に取り組んできている²⁻⁵。

固相抽出剤の形状としては、球形もしくは破碎型の粒子が利用される。その理由としては、粒子状の固相抽出剤は、その合成方法などを考慮した場合、入手が容易であることが挙げられる。一方で、上述のとおり、固相抽出剤はカートリッジなどに封入して利用されるため、そのカートリッジなどへの充填操作工程などにおいて、静電気などが理由で粒子が飛散してしまい、目的量の充填が困難なケースがある。また充填時に緻密に充填出来ない場合などがあり、捕捉能などに影響を与えてしまうこともある。それに加えて、粒子状の固相抽出剤では、カートリッジなどの容器に充填封入して利用するのが一般的であることから、固相抽出法としての適用時における容器の形状が限定されてしまう。このような理由より、円柱や板状などの様々な形状を有する固相抽出用の吸着媒体の合成方法の開発が求められている。

これまでに粒子状固相抽出剤が成形された吸着媒体としては、ポリエチレン粒子を用いて粒子状固相抽出剤同士を接合した方法などが報告されている。また粒子を含有した形状としては、繊維状のポリテトラフルオロエチレンで固相抽出剤を包含固定したディスク型固相抽出剤なども市販されている。また、液体クロマトグラフィーのカラムなどに利用されているモノリス型の固定相などについても固相抽出剤として利用されている。これらのように、粒子状としての利用ではなく、成形された固相抽出剤用の吸着媒体は、粒子のハンドリングが不要であるため、ユーザーとしての汎用性が非常に高い。その一方で、合成方法としてはユニークな部分も多いこともあり、より簡便な粒子状の固相抽出剤の成形技術の開発が必要である。

かかる背景をもとに当研究室では、粒子状の固相抽出剤を成形する技術の確立を目指し、研究を進めてきている。その一つとして、市販品の接着剤と固相抽出剤を混練し、円柱状の吸着媒体の合成手法について開発し、報告している⁶⁻⁷。本研究では、さまざまな市販の汎用接着剤を利用し、粒子状逆相系固相抽出剤の成形が出来ないか検討をし、いくつかの接着剤において成形が可能であることを報告している。これら接着剤により作製した成形媒体は、成形に用いた逆相系固相抽出剤の中性化合物への固相抽出特性をある程度維持できていたことから、一般的な固相抽出法への適用が可能であることが示唆された。加えて本法は、粒子状固相抽出剤を非常に高い含有率にて吸着媒体中に含有できることから、本成形技術が非常に有効であることも明らかとなった。その一方で、市販の汎用接着剤の利用では、その内容成分などをすべて知ることが困難であることに加え、反応などの制御についても困難である。さらに接着剤での粒子状固相抽出剤同士の接合は、物理的接合となってしまうケースが多く、より強固な接合をするためには、粒子状固相抽出剤同士を化学反応で接合を可能にする、つまり化学反応型の吸着媒体の作製を可能にする接合技術の開発が必要である

という着想に至った。

そこで本研究では、接着剤を用いた成形技術に加えて、反応点を有する粒子状固相抽出剤を合成し、その粒子同士について、反応性高分子を利用して結合させることにより成形する技術について検討を行い、その接合技術に関する最適化および得られる吸着媒体の捕捉特性などについて検討を行った。

2. 試料および実験方法

2.1 試薬および固相抽出剤

本研究において接合する粒子状固相抽出剤の基材樹脂は、疎水性母骨格となるdivinylbenzene (DVB)と、反応点としてのグリシジル基を構造内に有するglycidyl methacrylate (GMA)を採用し、懸濁共重合法により合成した (Fig. 1)。その基材樹脂に、化学反応による粒子同士の接合を可能にするために、分子量の異なる二種類のポリエチレンイミン(分子量：600 (PEI-600)および10,000 (PEI-10,000))を採用し、それらを基材樹脂に被覆導入した。合成した樹脂については、固相抽出での捕捉特性の評価を行うために、抽出検体として中性化合物のadenosine (A)、uracil (Ura)およびuridine (U)などを用いた (Fig. 2)。

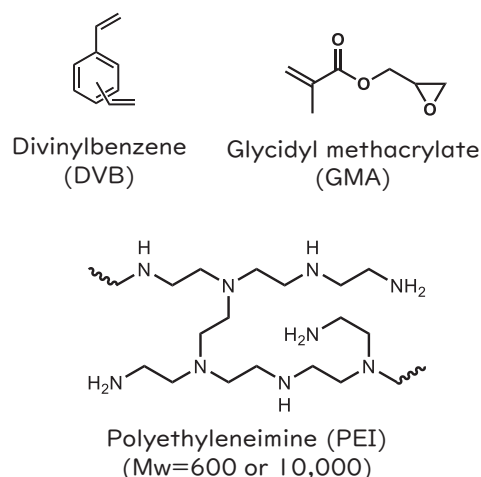


Fig. 1 本研究で用いたモノマーなど

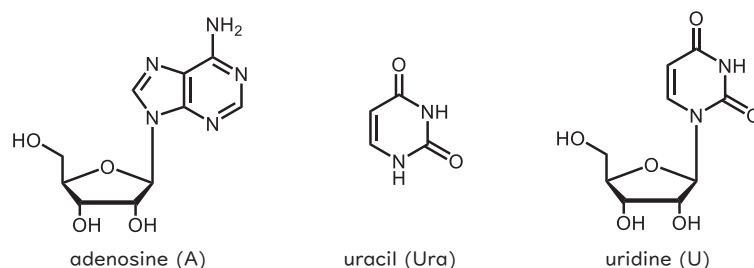
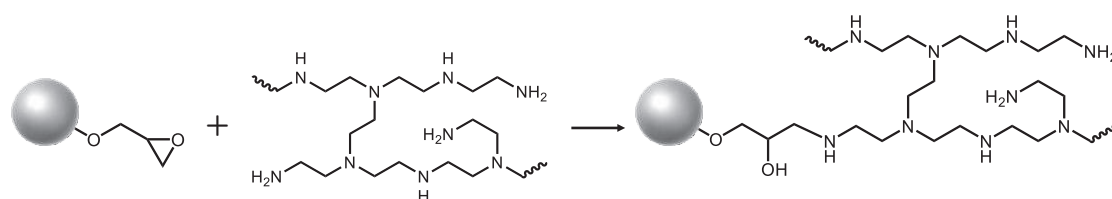


Fig. 2 固相抽出特性を評価するために利用した化合物の一例

吸着媒体の合成は、PEI-600を被覆導入した樹脂に反応性高分子としてMARPROOF® G-0250SP (MR)を採用し、さらにPEI-600を添加し、粒子状の固相抽出剤の接合を行った。得られた成形媒体について、中性化合物の捕捉特性について評価を行った。また銅イオンを用いて、吸着媒体の金属イオンに対する捕捉特性についても評価を行った。



DVBとGMAとの懸濁共重合により得られた粒子状基材樹脂について、分子量の異なるPEIを基材樹脂中のエポキシ基を介して被覆導入することにより、PEI被覆導入型粒子状固相抽出剤を合成した (Fig. 3)。成形については、得られたPEI被覆導入型粒子状固相抽出剤とMR、条件によってはPEI-600を混合し、それらを混練し、吸着媒体を作製した。

2.2 測定機器

中性化合物の捕捉特性の評価には、HPLC-UV装置を用いた。また銅イオンの評価については、紫外可視分光光度計を用いた。比表面積測定装置として、TriStar II Surface Area and Porosity Analyzer (Micromeritics)を用いた。またM-SPEMの表面状態の撮影には、JSM-6335FM (JEOL)を用いた。

3. 実験結果

3.1 基材樹脂およびPEIを被覆した樹脂の捕捉特性評価

固相抽出法では、逆相系固相抽出剤がさまざまな化合物の前処理において汎用的に利用されている。本研究では、逆相系固相抽出剤の吸着媒体を作成する手法の開発を目的とし、疎水性モノマーであるDVBを母骨格とした固相抽出剤の成形方法について検討を行うことにした。DVBとGMAとの共重合型基材樹脂にPEIを被覆導入して粒子間接合時の反応点となるアミノ基を多数有する粒子状逆相系固相抽出剤を合成し、その粒子状逆相系固相抽出剤の接合による吸着媒体の合成手法の開発を行った。ポリエチレンジイミンを被覆することにより、粒子同士の接合を可能にする反応点を有する粒子状の逆相系固相抽出剤を合成し、その粒子状固相抽出剤を接合することにより、吸着媒体を合成した。基材樹脂に被覆するPEIの分子量の違いによる中性化合物の捕捉特性の評価について検討を行った。その結果、極性化合物の捕捉については、PEI-600を被覆した樹脂のほうが高い捕捉特性を有することが明らかとなった。この理由としては、PEI-10,000を被覆した樹脂においては、高い疎水性を有する基材樹脂表面にPEI-10,000に由来する過剰な濡れ性が付与されてしまったため、逆相系固相抽出剤の主相互作用である疎水性相互作用の発現が減弱されてしまい、捕捉特性が低下してしまったものと思われる。そこで接合する粒子状逆相系固相抽出剤としてはPEI-600を被覆導入したものを採用し、以後の検討を行うことにした。

3.2 PEI被覆樹脂の接合条件の最適化

ついで、最適化した粒子状のPEI被覆型粒子状固相抽出剤について、エポキシ基を多数有する高分子であるMRを用いて接合する条件について検討を行うことにした。まず、粒子状のPEI被覆型粒子状固相抽出剤とMR (30 %トルエン溶液) の量比を2 : 1にて検討を行ったところ、成形体を得ることができなかった。この結果から、強固な接合媒体を形成させるためには、粒子とMRとの反応率の向上と同時に、MR自身の架橋が必要であると考え、添加剤として、PEI-600およびPEI-10,000を添加し、粒子同士の接合が可能か検討を行った。その量比としては、PEI被覆型粒子状固相抽出剤/MR/PEI-600もしくはPEI-10,000=2/1/1にて成形可能か検討を行った。その結果、上述とは異なり、どちらのPEIを添加した場合においても、粒子状固相抽出剤を接合することが可能であった。しかし、PEI-10,000を添加剤として用いた吸着媒体では、接合反応後の洗浄工程にお

いて、未反応物質及び副反応生成物の洗浄が困難であることが明らかとなったため、PEI-600を添加剤として利用した処方にて接合条件の最適化を行うことにした。

3.3 成形媒体中の粒子含有量に関する検討

これまでの市販品の接着剤を利用した成形技術に関する検討において、成形媒体中における粒子状固相抽出剤の含有率の増加に伴い、中性化合物の捕捉特性の改善を確認している。そこで本研究でも同様に、粒子状固相抽出剤の含有率の上昇させることが可能か、検討を行った。

3.2においては、PEI被覆粒子状固相抽出剤/MR/PEI-600=2/1/1で化学反応を利用した成形媒体の作製が可能であることが明らかとなった。そこで、PEI被覆型粒子状固相抽出剤の量比を増加させた場合に、成形媒体の作製が可能か、検討を行った。その結果、PEI被覆粒子状固相抽出剤/MR/PEI-600=3/1/1の処方のもは作製することが可能であった。Fig. 4に、PEI被覆粒子状固相抽出剤/MR/PEI-600=2.5/1/1で作製した外観写真およびSEM画像を示す。特にSEM画像からは、粒子状固相抽出剤同士が反応性高分子により接合されていることが分かる。以上の結果より、化学反応を利用しても固相抽出剤同士の接合が可能であることが明らかとなった。

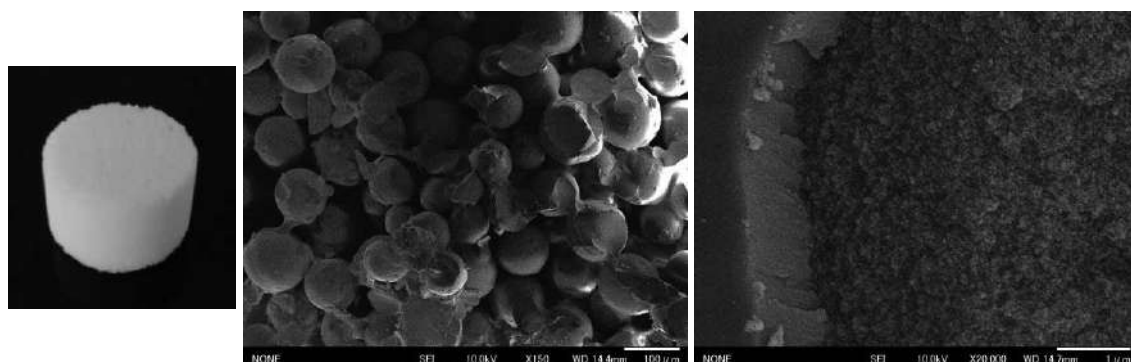


Fig. 4 PEI被覆粒子状固相抽出剤/MR/PEI-600=2.5/1/1で作製した成形媒体。
(左)成形媒体の外観図。(中)成形媒体の断面図のSEM画像および(右)その拡大図

3.4 得られた成形媒体の固相抽出特性の評価

今回成形した粒子状固相抽出剤は、基材樹脂の部分はDVBをベースとしているため、疎水性相互作用を主相互作用とする逆相系固相抽出剤として利用が可能である。そのため、得られた成形媒体について、UやUraなどの極性化合物を利用してその捕捉特性について評価を行った。その結果、粒子状固相抽出剤の時と比較しても、それほど大きな捕捉特性の低下は確認されなかった。

それに加えて、本研究で検討した樹脂ではPEIを被覆および接合時の添加剤として利用している。そのためPEIに由来するキレート能を利用した金属イオンの捕捉が期待できた。そこで銅イオンを用いて金属イオンの捕捉能についても検討を行うことにした。その結果、吸着媒体は高い銅イオンの捕捉容量を有していることが明らかとなった。以上の結果より、本吸着媒体は、中性化合物から金属イオンまで広範な化合物の前処理媒体としての利用が期待できることが明らかとなった。

結論

本研究では、粒子状固相抽出剤の成形技術の確立を目指し、化学反応を利用した粒子の接合技術

の開発について検討を行った。粒子状逆相系固相抽出剤にPEIを被覆することで反応点を形成させ、その粒子同士について、反応性高分子を利用して接合することにより、高い硬度を有する吸着媒体の作製が可能であることが明らかとなった。さらにその得られた吸着媒体は、中性化合物および金属イオンなどへの捕捉能を有することも明らかとなった。本成形技術は、今後の粒子状固相抽出剤を成形した状態での利用を可能にする重要な技術であると考えられる。

参考文献

1. Andrade-Eiroa, A.; Canle, M.; Leroy-Cancellieri, V.; Cerdà, V., Solid-phase extraction of organic compounds: A critical review (Part I). *TrAC, Trends Anal. Chem.* **2016**, *80*, 641-654.
2. Murakami, H.; Aoyanagi, T.; Miki, Y.; Tomita, H.; Esaka, Y.; Inoue, Y.; Teshima, N., Effects of hydrophilic monomers on sorptive properties of divinylbenzene-based reversed phase sorbents. *Talanta* **2018**, *185*, 427-432.
3. Murakami, H.; Tomita, H.; Aoyanagi, T.; Sugita, T.; Miki, Y.; Esaka, Y.; Inoue, Y.; Teshima, N., Effects of pendant-like hydrophilic monomers on the adsorption properties of reversed-phase-type sorbents for solid-phase extraction. *Anal. Chim. Acta* **2019**, *1075*, 106-111.
4. Murakami, H.; Omiya, M.; Miki, Y.; Umemura, T.; Esaka, Y.; Inoue, Y.; Teshima, N., Evaluation of the adsorption properties of nucleobase-modified sorbents for a solid-phase extraction of water-soluble compounds. *Talanta* **2020**, *217*, 121052.
5. Murakami, H.; Sugiyama, T.; Miki, Y.; Umemura, T.; Esaka, Y.; Inoue, Y.; Teshima, N., Development and evaluation of HILIC-type sorbents modified with hydrophilic copolymers for solid-phase extraction. *Anal. Sci.* **2020**, *36* (10), 1185-1190.
6. Miki, Y.; Murakami, H.; Iida, K.; Umemura, T.; Esaka, Y.; Inoue, Y.; Teshima, N., Molding-type solid-phase extraction media glued with commercially available adhesives. *Anal. Sci.* **2020**, *36* (10), 1153-1155.
7. Miki, Y.; Murakami, H.; Iida, K.; Umemura, T.; Esaka, Y.; Inoue, Y.; Teshima, N., Preparation and Evaluation of Molding-type Solid-phase Extraction Media Binding with Commercially Available Adhesives. *Anal. Sci.* **2022**, *38*, 307-315.