

超臨界流体クロマトグラフィーにおける 充填粒子内リガンド密度の保持因子に及ぼす影響

Effect of ligand density in packed particles on retention factor in supercritical fluid chromatography

応用化学専攻 篠崎 翔平

SHINOZAKI shohei

1. 緒言

物質を分離する方法として、一般的に移動相に有機溶媒を用いる高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 法や気体を用いるガスクロマトグラフィー (GC) 法が知られている。近年、移動相に超臨界流体とモディファイアと呼ばれる少量の有機溶媒の混合流体を用いた超臨界流体クロマトグラフィー (SFC) 法が、医薬品や食品産業で注目されている。

超臨界流体は高拡散性、低粘性であるため、SFC 法は HPLC 法よりも高速分離が可能である。また、SFC 法は超臨界流体の高い溶解性により GC 法では分離できない不揮発性物質の分離も可能である。さらに、有機溶媒の使用量が少なく、環境への負荷が小さいという利点がある。

SFC 法は圧力や温度、モディファイアの種類や組成、カラムの充填粒子のリガンドの種類や密度により保持因子 k が変化する。そのため、これら操作因子と k との関係が不明であるといった問題がある。既往の研究において、蒸発熱やエントロピーなどの熱力学量や溶質と溶媒の化学構造から k の評価が試みられているが、高精度での予測や相関はされていない⁽¹⁾。

本研究では、カラムの充填粒子のリガンド密度、圧力、温度に着目し、リガンド密度のみを変化させた 4 種類の ODS カラムを用いて、SFC 法により *trans*-stilbene oxide と octadecanophenone の k を測定した。そして、得られた結果より、操作因子と k との関係を調査した。

2. 実験

実験装置は Nexera UC (Shimadzu) を使用し、図 1 に実験装置の概略図を示す。移動相は二酸化炭素にモディファイアとして methanol を加えた混合流体を使用した。移動相をプランジャーポンプにより一定流量で送液し、インジェクターより *trans*-stilbene oxide と octadecanophenone の

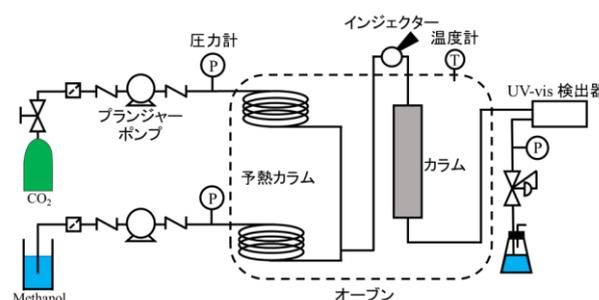


図 1. 実験装置概略図

methanol 溶液 (2 mM) をそれぞれ 5 μ L パルス注入した。その後、カラムに流通させ、UV-vis 検出器を用いて吸光度を測定した。カラムはリガンド密度のみが異なる 4 種類の ODS カラムを用い、リガンドがないものを No.1、充填粒子内のリガンド密度が低い順に No.2-4 とした。そして、実測した応答曲線より *trans*-stilbene oxide と octadecanophenone の保持時間を測定し、式 (1) により k を求めた。

測定条件は流量 0.50 mL/min、モディファイア体積分率 0.1 v/v、圧力 15.0 - 27.5 MPa、カラム温度 40.0 - 60.0 $^{\circ}$ C とした。

$$k = \frac{t_R - t_0}{t_0} \quad (1)$$

(t_0 : マーカーの保持時間 t_R : 測定物質の保持時間)

3. 結果及び考察

図 2、に、*trans*-stilbene oxide の各リガンド密度における k に対する移動相密度の影響を示す。図 2 より、移動相密度の増加に伴い k が減少していることがわかる。これは、移動相密度が増加するにしたがい、相対的に溶質分子とリガンドとの相互作用の頻度が減少するためだと考えられる。さらに、リガンドがない No.1 のカラムを除く 3 種類のリガンド密度において、移動相密度に対する

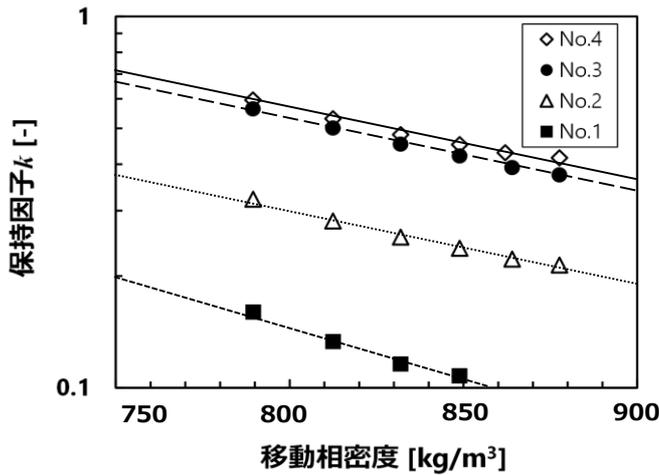


図 2. *trans-stilbene oxide* の各リガンド密度における移動相密度に対する k (温度: 40.0 °C)

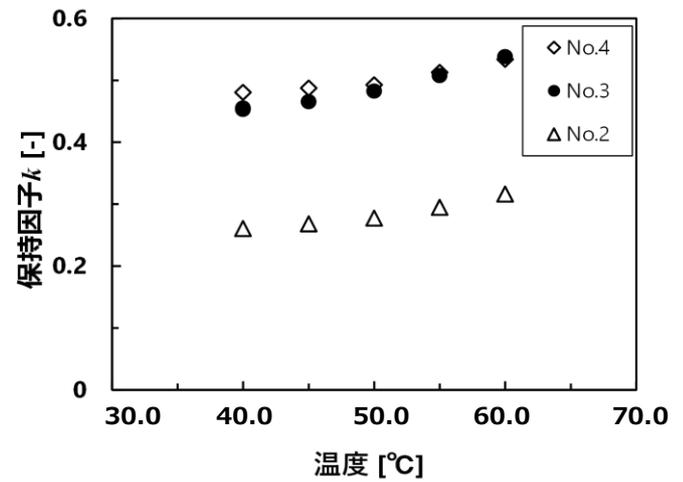


図 3. *trans-stilbene oxide* の各リガンド密度における温度に対する k (圧力: 20.0 MPa)

k の傾きが一定であることから、傾きはリガンド密度に依存しないことが示唆された。また、図 3 に、*t*-SO の各リガンド密度における k に対する温度の影響を示す。図 3 より温度の上昇に伴い保持因子が増加していることがわかる。 k に対する移動相密度と温度の影響は *octadecanophenone* においても図 2、3 で得られた傾向と同様であった。このことから、 k はリガンド密度ごとに移動相密度と温度で相関が可能であると考えられる。

超臨界二酸化炭素における溶解度 y の推算式として Chrastil 式(2)が知られている⁽²⁾。

$$\ln y = \frac{A_1}{T} + A_2 + A_3 \ln \rho \quad (2)$$

(A_1, A_2, A_3 : 定数 T : 絶対温度 ρ : 溶媒密度)
 k が移動相密度と温度で相関可能であると考えられるので、Chrastil 式を用いた k の相関式である Chrastil 式 (3) が提案されている⁽³⁾。

$$\ln k = \frac{B_1}{T} + B_2 + B_3 \ln \rho \quad (3)$$

(B_1, B_2, B_3 : 定数 T : 絶対温度 ρ : 移動相密度)
今回測定した *trans-stilbene oxide* と *octadecanophenone* において式 (3) の定数を回帰分析により決定し、 k の実測値と相関値の平均絶対相対誤差 AARD を式 (4) により算出し、表 1 に示す。

$$\text{AARD}(\%) = \frac{100}{N} \sum \left| \frac{k^{\text{exp}} - k^{\text{cal}}}{k^{\text{exp}}} \right| \quad (4)$$

表 1. Chrastil 式の定数と AARD

物質	カラム	B_1	B_2	B_3	AARD (%)	N
<i>trans-stilbene oxide</i>	No. 2	1593	21.97	-4.215	0.620	10
<i>trans-stilbene oxide</i>	No. 3	1808	22.12	-4.254	0.527	10
<i>trans-stilbene oxide</i>	No. 4	1940	18.41	-3.756	1.62	10
<i>octadecanophenone</i>	No. 2	2352	28.25	-5.434	1.12	10
<i>octadecanophenone</i>	No. 3	2452	24.46	-4.770	6.13	10
<i>octadecanophenone</i>	No. 4	3211	20.73	-4.551	6.16	10

(k^{exp} : 実測値 k^{cal} : 相関値 N : データ数)

各測定物質、各リガンド密度において AARD7% 未満で k を移動相密度と温度で相関することができた。

4. 結論

SFC 法により *trans-stilbene oxide* と *octadecanophenone* の k を測定した。各測定物質、各リガンド密度について Chrastil 式を用いることで、実測値に対する相関値の AARD7% 未満で相関できた。

引用文献

- (1) Lesellier, E.; West, C. *J. Chromatogr. A*, **2015**, 1382, 2–46.
- (2) Chrastil, J. *J. Phys. Chem.*, **1982**, 86, 3016–3021.
- (3) Funazukuri, T. *et al. J. Chromatogr. A*, **2017**, 1527, 91–96.