研究論文

高速液体クロマトグラフ（HPLC）を利用した多孔質材料の多孔性評価（インバースクロマトグラフ法）に関する研究

笠原　勝次*　皆川　森夫*　内藤　隆之*

Liquid Chromatographic porosity evaluation for porous material with HPLC (inverse chromatography)

KASAHARA Katsuji*, MINAGAWA Morio* and NAITOU Takayuki*

抄　録

水膨潤状態のセルロース材料を固定相として，分子量既知のポリエチレングリコール（PEG）およびポリエチレンオキサイド（PEO）を各サイズの細孔を検出するプローブとして用いて，高速液体クロマトグラフを利用したサイズエクスクルージョンクロマトグラフィー（SEC）を応用して評価を試み，有効性と留意点について検討した。特に，2 種類の活性炭について細孔分布を比較して，活性炭の多孔性に有意な差を検出することができた。

1. 緒　言

活性炭やゼオライトに代表される多孔質材料は多孔性による比表面積の大きさを利用して，空気浄化や水処理，触媒担持などに利用されており，その多孔性を評価することは多孔質材料の性質を予測し，新規多孔質材料を開発する際の指標を得るために重要である。しかしながら，現在一般的に用いられている水銀圧入法やガス吸着法では乾燥状態での評価しかできないため，水処理に用いられる材料などでは，膨潤の様な水と材料間の相互作用による影響を評価することができず，触媒の担体として用いられる場合にも，反応溶媒や抽出溶媒の吸着や溶媒和などの相互作用による多孔性への影響を評価することができない。

そのため，材料を液体に浸漬して湿潤した状態で多孔性を評価することができれば画期的である。

一方，SEC は既知の多孔性を持つ多孔質材料を固定相として，溶離液に可溶な高分子物質の分子量を測定する分析法であるが，笠原らは通常の SEC とは逆の構成で，細孔分布不明のセルロース材料を固定相として分子量既知のポリエチレングリコールを細孔サイズを検出するプローブ物質として用いる SEC を行い，セルロース材料の多孔性評価を試みており，その結果，膨潤状態のセルロース繊維の全細孔容積と細孔分布を測定して，染料吸着挙動や各種仕上げ加工によるセルロース材料の物性変化と良い相関を得られることを報告している [1]。（この SEC は固定相と移動相に流す試料の関係が通常のものと逆の構成になるので，既存の技術であるインバースガスクロマトグラフィーにならって，特にインバースサイズエクスクルージョンクロマトグラフィー（ISEC）とよぶこととする）。

今回，我々は水処理に用いられることの多い活性炭を固定相として，細孔サイズを検出するプローブとして分子量標準の PEG および PEO を用いた ISEC を行い，興味深い知見を得たので，報告する。

2. 実　験

2.1 装　置

用いた高速液体クロマトグラフ装置は溶離液である純水を送液する送液ポンプ（(株) 島津製作所製 LC-6AD），測定試料を詰めたカラムを格納し，

* 下越技術支援センター

一定温度に保温するカラムオーブン（(株) 島津製作所製 CTO-10A$_{VP}$), 溶出したプローブ分子を検出する屈折率検出器（(株) 島津製作所製 RID-10A), そして装置を制御するシステムコントローラー（(株) 島津製作所製 SCL-10A$_{VP}$), システムコントローラーと接続して，装置の制御と検出器からのデータを記録するパーソナルコンピュータ（富士通（株）製 FMV　C601）からなる。

装置の制御とデータの記録と解析には前述のパーソナルコンピュータで測定・解析ソフトウエア（(株) 島津製作所製 Labsolutions／LC solution Ver.1.25）を用いて行った。また，送液ポンプ前段には溶離液中に溶存する空気を除去するためのヘリウムガス加圧式脱気装置を設け，カラムオーブンには分子量標準の PEG および PEO の水溶液をカラムに一定量導入するためのサンプルループとインジェクションバルブを備えている。

2.2 試　　薬

溶離液は純水をアスピレータで 30 分間減圧脱気して用いた。測定試料である多孔質材料は活性炭 2 種類（1）ヤシ殻炭 : ナカライテスク（株）社製活性炭素（ヤシ殻製，未洗浄処理品，ナカライ規格 1 級，破砕状 30〜60 メッシュ)，(2) 粒状炭 : ナカライテスク（株）社製活性炭素（粒状瀝青炭製，ナカライ規格 1 級，8〜30 メッシュ）をそれぞれ HPLC 用ステンレス製空カラム（内径 ϕ 6 mm ×長さ 50 mm）に約 0.5g を特に精製せずに乾式で充填して用いた。なお，活性炭を充填したカラムはカラムオーブン内に固定して，インジェクションバルブと屈折率検出器の間に接続した。測定に先立って，1.0 ml/min の流速でメタノール（和光純薬製試薬 1 級）を 40℃で 120 分間流して洗浄し，続いて前述の溶離液で 0.3 ml/min，40℃で 48 時間以上コンディショニングして安定化して用いた。

溶出ピーク位置プローブ物質として，水溶性分子量標準ポリマーである PEG（ジーエルサイエンス (株) 製 Polymer Standard Polyethylene glycol : 分子量 M_p=238, 1,000, 4,000 (*Mp* はゲル浸透クロマトグラフィーによるピーク分子量)）および PEO

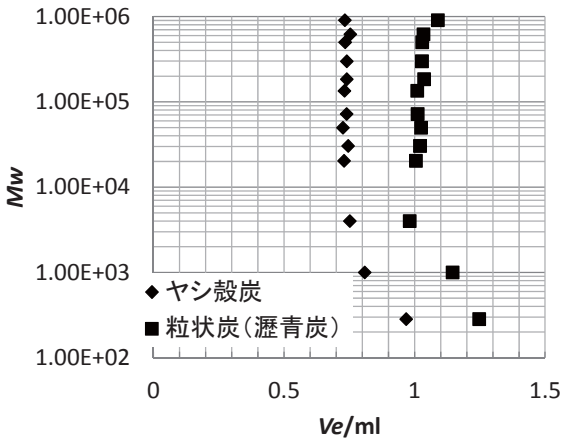

図 1　M_w—V_e曲線

（ジーエルサイエンス（株）製 Polymer kit PEO 10 : 分子量 M_p=20,260，30,310，49,640，71,800, 134,300, 183,500, 298,000, 498,600, 610,500, 905,000 のセット）をやはり特に精製せずにそれぞれ純水に溶解・希釈して 0.1 wt%の濃度に調整して用いた。

2.3 測　　定

測定は溶離液を 0.3 ml/min の一定流速で流して，プローブ物質の 0.1 wt% PEG および PEO 水溶液をマイクロシリンジで注入して行ったが，注入量は 20 µl サンプルループを用いて一定とした。

3.　結果と考察

3.1 細孔分布

得られた結果はデータ収集用パーソナルコンピュータのクロマトグラフデータ解析ソフトウエアでそれぞれのプローブに対してピーク位置を自動検出させて保持時間 R_t を決定して，溶離液の流速 0.3 ml/min と R_t から次の式（1）によりそれぞれの溶出体積 *Ve* を求めた。

$$V_e = 0.3R_t \qquad (1)$$

図 1 にそれぞれの分子量 M_w と V_e をプロットした分子量—溶出体積（M_w−V_e）曲線を示す。

小さな分子量のものほど，小さいサイズの孔にも侵入できるため，利用できる孔の数が多く容積も大きくなることから，保持時間が長くなるが，

大きな分子量のものほど，侵入できる孔が少なくなり，保持時間が短くなっている。さらに，分子サイズがある大きさ以上になると，利用できる孔が無くなり，固定相粒子の間隙を流れるだけになるため, ほぼ一定の保持時間を示している。次に，*Mw*－*Ve* 曲線からプローブ分子の分子サイズが大きいため孔を利用できず，その溶出時間がほぼ一定となった溶出容積, すなわち移動相容積 V_m を読み取り, この V_m と各プローブの実測溶出容積 V_e, 固定相の乾燥重量 W から，これまでの研究 [2,4-9] にならい, 以下の (2) 式により, accessible specific pore volume Vi を求めた。

$$V_i = \frac{V_e - V_m}{W} \qquad (2)$$

この V_i は得られた実測の溶出容積 V_e が孔を利用しないで，ただカラムの固定相粒子の間隙を流れた溶媒容積 V_m を含んでいることから, これを差し引いてプローブが流れる際に利用した孔のみの固定相の単位質量あたりの容積を示す。ところで，この図 1 はプローブの分子量に対する溶出容積をプロットしているが，プローブとして用いている PEG や PEO の様な鎖状の高分子物質は，溶媒，特に, 溶媒和などの相互作用が強い溶媒中では, 種々の形態をとり，常に直鎖状になっているとは限らない。分子量がそのまま分子の占める容積を示すものとはならないことに注意が必要である。

しかしながら, Bredereck ら [2] は PEG 分子の直径 d（10^{-1}nm）と分子量 M_W の関係を PEG やいくつかの多糖類分子を球形と仮定して SEC の結果から

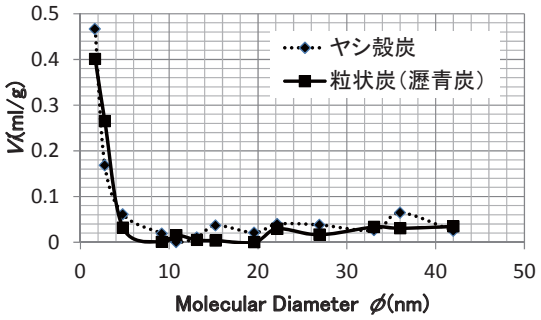

図 2　V_i-φ 曲線（全領域）

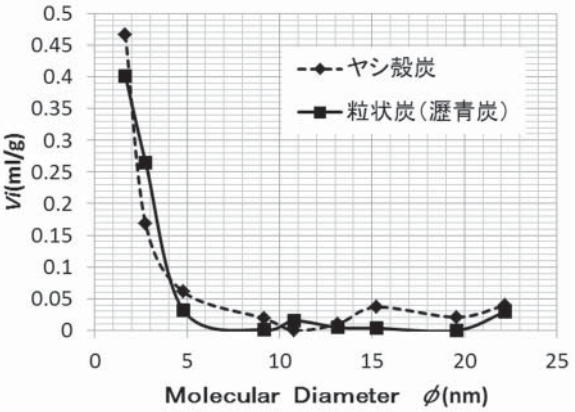

図 3　V_i-φ曲線（φ<20）

分子直径を求めた Squire の論文 [3] を引用して，次の（3）式で分子直径 d(Å)を求めている。分子量と（3）式で求めた分子サイズを表 1 にまとめた。

$$d = 1.74 M_w^{0.40} \qquad (3)$$

そこで，図 1 で得られたデータを（2）式で計算した Vi と（3）式で計算した分子直径 d から求められる φ に対してプロットし直したものが図 2 である。

表 1　使用したプローブの分子量 M_w と式（3）により求めた分子サイズの一覧（φ：φ=0.1d）

	Mw	φ(nm)
PEG	283	1.664
	1000	2.758
	4000	4.802
PEO	20260	9.188
	30310	10.79
	49640	13.15
	71800	15.24
	134300	19.58
	183500	22.18
	298000	26.93
	498600	33.09
	616500	36.02
	905000	42.00

図 2 より，ϕ=10～20 の区間ではほぼ Vi=0 で一定となっており，この区間でプローブ分子が孔を利用できる限界の大きさとなっていると推定できるが，これより大きい領域では，わずかであるが，徐々に Vi が大きくなっているようにも見える。これは，あるいは，これより大きな領域ではプローブ分子の分子量が大きくなり，親水性に大きく寄与する極性の強い末端 OH 基よりも疎水性の -O-CH_2-CH_2-O-鎖による活性炭表面との相互作用の寄与が大きくなるため，活性炭表面へのファンデルワールス吸着が優勢に起こり，そのためにプローブ分子の移動相である水と固定相である活性炭の間の分配平衡が活性炭の方に傾き，V_i が大きくなっている可能性がある。これについては，今後，吸着の強いカラムに対する吸着が少ないデキストランやプルランの様な多糖類系の分子量スタンダードをプローブとする方法やカラム温度を今回よりも高くしてプローブの運動エネルギーを向上させて吸着を回避する方法などで検証する必要があり，この領域をそのまま評価することはできない。そこで，V_i が大きくなり始め，吸着の影響が予測される ϕ >22 の区間を除いて ϕ <22 の領域のみ評価する。ϕ <22 の区間のみプロットしたのが図 3 である。ここで，直径 ϕ_i の PEG 分子が入り得る細孔の全容積は，$\phi \geqq \phi_i$ に対応する累積容積である。すなわち，$\phi_{i-1} > \phi_i$ ならば，$V_i > V_{i-1}$ となり，ϕ_{i-1} と ϕ_i の間の容積の差は ΔVi となる。したがって，ϕ_i のみの細孔容積 v は，Vi 近傍の V の差分 dVi と対応する ϕ の差分 $d\phi_i$ から次の式 (4) で与えられる。

$$v = -\frac{dV_i}{d\phi_i} \qquad (4)$$

このように，図 1，図 2，図 3 は細孔容積の累積曲線であることから，得られた曲線の各プローブ分子径の点での接線の傾きを (4) 式を用いて求めることにより，細孔容積分布が得られる。このようにして得られた各プローブ分子のサイズに対応する細孔容積をプロットした細孔容積分布が図 4 で

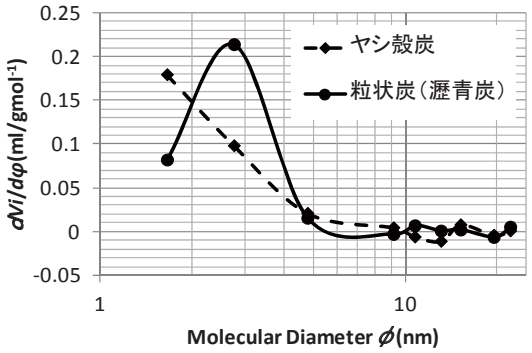

図 4　細孔容積分布

ある。横軸はプローブの分子径の表記になっているが，これはそのまま細孔径と読み替えて差し支えない。

本研究では，プローブの分子量範囲が大きいものを中心に用意したため，今回の測定では細孔サイズが測定可能範囲の下限一杯になってしまい，細孔分布のピーク位置が瀝青炭由来粒状炭では 2 点のみ，ヤシ殻炭にいたっては，用意したプローブのサイズより小さいところにピークトップがあるようで，測定範囲から外れてしまっている。ピークの存在がかろうじて認識できている瀝青炭由来粒状炭においても，ピーク頂点近辺のプローブサイズをもう何種類か揃えてみないと，ピークがありそうだということは言えても，ピークの位置を特定するためにはデータ数が足りない。一方，Bredereck ら [2] は浸透領域（浸透限界から排除限界の間の曲線の傾きが最も大きくなる領域（細孔分布曲線のピーク頂点近辺に相当する領域）で 15 点程度のプロットを得ている。彼らの測定対象と我々の測定対象では，細孔分布の広がりに違いがあるはずで，同じような議論はできないかもしれないが，同程度のデータ数は必要であると思われる。サイズの小さな領域の水溶性プローブは単分子まで含めれば，豊富である。プローブの分子量範囲を吟味して測定すれば，もっと詳細に測定すること自体は可能であると思われる。

なお，図 4 で見られるプロファイルは，ヤシ殻活性炭はミクロ孔が大きく発達しており，メソ孔やマクロ孔が少なく，一方，石炭系はヤシ殻に比べ，ミクロ孔は少ないが，メソ孔の割合が大きい

という特徴[10]と一致している。

3.2 全細孔容積

前項で述べたように, 低分子側の PEG の V_i 値はそれより大きな分子量の PEG の V_i 値の累積値であるから，プローブの分子径が 0 に近づくほど，全細孔容積の値に近づくと考えられる。Bredereck ら [2]は低分子量側の PEG の溶出データを使って，d=0（本報の図 3 では ϕ =0）に外挿した近似直線の V_i から全細孔値を求めている。

しかしながら，彼らは排除限界以下のデータを浸透限界を識別できる範囲まで細かくとっているのに対して，我々のデータはそこまでのデータ数がない。彼らの解析法を適用するには，少なくとも，図 4 の細孔分布ピーク頂点位置が詳細に確認できる程度のデータ数が必要である。したがって，瀝青炭由来の粒状炭で，かなり大雑把に近似直線を引くことが出来るかもしれないが，一方，ヤシ殻炭では，ピーク頂点を確認するに至っていないので，近似直線を引くことすらできない。そのため，今回のデータから，全細孔容積を求めることは断念した。

3.3 判明した課題

最後に, ISEC を多孔質材料の多孔性評価に適用する際の課題についてまとめる。

まず, ISEC はプローブ分子の選定が課題である。プローブ分子に要求される性質は，溶離液によく溶解すること，測定対象の多孔質材料への吸着が全分子量にわたって起らないか，あるいはほとんど起こらないこと，プローブ分子の分子量範囲が多孔質材料の予測される細孔分布の全範囲をカバーすることなどである。

次に，屈折率検出器や紫外可視吸光検出器を用いる場合には，検出器で各プローブを識別することができない場合が多い。例えば，我々の方法のように屈折率検出器を用いて PEG や PEO をプローブにする場合にはプローブが溶出してきたことは通常の HPLC と同様に検出することはできるが，溶出してきたプローブの分子量や分子径などは判別できないので，プローブを 1 つずつ導入して溶出時間を決定する必要がある。そのため，測定時間にはかなりの時間を要する。

一方，多角レーザー散乱検出器（MALS）のような，分子量や動的回転半径などの分子サイズ情報が同時に得られる検出器を用いれば，以上の課題はほとんど解決できる可能性がある。

すなわち, 測定試料である多孔質材料について，十分に微細な粒子を十分な量用意できれば，理論段数の高い，全長の長いカラムを構成することは可能なので，各種のプローブを一つ一つ別々に導入しなくても，検出器に MALS を用いていれば，数種のプローブを混合して導入しても分離して得られる個々のプローブの分子サイズを測定する [11]ことで時間を節約でき，場合によっては，スタンダードグレードではない試薬でも，溶出容積をクロマトグラムから読み取ると同時に分子径を知ることができる [11]ので，プローブとして利用できるかもしれない。この場合でもプローブとして用いる物質が測定試料である多孔質材料と吸着のような相互作用を起こさない条件をあらかじめ評価し，測定条件を検討することは必要である。

4. 結　　言

(1) ISEC によって活性炭でも細孔分布の評価に適用し得ることを見出した。

(2) プローブ物質の選定にはプローブ物質と測定試料の間の相互作用が弱いものを選ぶ必要があることがわかった。

(3) プローブ物質の選定にはプローブ分子量と測定試料の細孔分布範囲の適合性に留意する必要があることがわかった。

(4) 検出器など，測定に用いる機器の構成を見直すことで，適用可能性を広げることができるかもしれない。

参考文献

1) 笠原勝次，佐々木博昭，呑海信雄，伊藤啓，高岸徹 “液体クロマトグラフィー法による膨潤セルロース系繊維のキャラクタリゼーション”,

繊維学会誌, 58 巻, 9 号, 2002 年, pp. 332-336.
2) K. Bredereck and A.Blüher, “Porenstructur-bestimmung von Cellulose- fsasern durch Aus-schlußchromatographie. Grundlagen und Anwendungsbeispiele, für Quellbehandlungen und Hoch- veredlung von Baumwollgewebe”, *Melliand Textileberichte*, vol73, no. 8 (1992), pp. 652-662.
3) P.G.Squire, “Calculation of hydrodynamic parameters of random coil polymers from size exclusion chromatography and comparison with parameters by conventional methods”, .*Journal of Chromatography* vol210, no. 3 (1981), pp. 433-442.
4) L. Martin, N.R. Bertoniere, F.A. Blouin, M.A. Brannan, and S.P. Rowland, “Gel permeation properties of cellulose: II: comparison of structures of decrystallized cotton cross” *Textile Research Journal*,vol40, no. 1, (1970), pp. 8-14.
5) S.P. Rowland, C.P.Wade and N.R. Bertoniere, “Pore structure analysis of purified, sodium hydroxide-treated and liquid ammonia treated cotton celluloses”, *Journal of Appied Polymer Science*, vol29, no. 11, (1984), pp. 3349-3357.
6) N.R. Bertoniere and W.D. King, “Effect of scouring / bleaching, caustic merserization, and liquid ammonia treatment on the pore structure of cotton textile fibers”, *Texile Reearch Journal*, vol59, no. 2 (1989), pp. 114-121.
7) K. Bredereck and A. Brüher, “Die Ammoniak-Vorebehandlung und ihre Aus- wirkung auf die Veredlung”, *Melliand Textileberichte*, vol72, no.6, (1991), pp. 446-454.
8) K. Bredereck, W. Meister and A. Brüher, “Die Hydrogelstrukutur von Viscofasern im Vergleich zu Baumwolle – Struktur- characterisierung durch Größen- ausschluß-Chromatographie” *Melliand Textileberichte*, vol 74, no. 12, (1993), pp. 1271-1276.
9) C.M. Ladisch, Y. Yang, A. Velayudhan and M.R. Ladisch, “A new approach to the study of textile properties with liquid chromatography” *Textile Research Journa,l* vol62, no. 6, (1992), pp. 361-369.
10) 多孔質吸着剤ハンドブック，吉田弘之ほか, フジテクノシステム，(2005)，p84.
11) 香川信之，徳永邦行“サイズ排除クロマトグラフィー／多角度光散乱法によるポリアミン塩酸塩の分子量測定”，分析化学, 58 巻, 3 号, 2009 年，pp. 141-146.