



Title	新規スプリットフロー技術開発に基づく超臨界流体抽出—超臨界流体クロマトグラフィーシステム基盤技術の構築
Author(s)	酒井, 美穂
Citation	大阪大学, 2020, 博士論文
Version Type	VoR
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/76509">https://doi.org/10.18910/76509</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 論文内容の要旨

氏 名 ( 酒 井 美 穂 )

## 論文題名

新規スプリットフロー技術開発に基づく超臨界流体抽出-超臨界流体クロマトグラフィーシステム基盤技術の構築

## 論文内容の要旨

## 第一章 緒論

超臨界流体とは物質の臨界点を超えた温度、圧力下にある物質のことを指し、その粘度は気体様に低く、拡散係数は気体と液体の間をとる。また密度は、気体に比べてはるかに大きく、液体並みである。このような超臨界流体の特徴は、液体に匹敵する溶解力により迅速な処理を可能とする。中でも超臨界流体二酸化炭素は、室温付近の臨界温度であること、安価で低毒性であることから最も利用されている。超臨界流体二酸化炭素の溶解性は $n$ -ヘキサンと同程度とされるが、モディファイアと呼ばれる極性溶媒との混和が可能であり、溶出力を大きく変化させることができる。このような特性を持つ超臨界流体二酸化炭素は成分分析プロセスにおける抽出 (Supercritical fluid extraction: SFE) やクロマトグラフィー (Supercritical fluid chromatography: SFC) に広く利用されている。一方、分析プロセスの効率化と精度向上を目的としたSFEとSFCのオンライン接続は1980年代から検討されてきたが、SFEからSFCに移送される抽出物量の調節ができないことに起因したピーク形状の悪化や装置汚染により実用化に至っていない。そこで本博士研究では、SFEからの抽出物量を調節してSFCに導入する新規スプリットフロー技術を開発し、それに基づいてSFE-SFCシステムの基盤技術を構築することを目的とした。

## 第二章 SFE-SFCシステムの実用化に資する新規スプリットフロー技術の開発

一般に超臨界流体のスプリットは、分岐した流路の配管内径や長さを変更することにより調節される。しかし、配管の仕様は限られるため、連続したスプリット比の調節は困難であった。そこで、SFEの下流で分岐した2つの流路（一方は廃棄側、他方はSFCカラム側）に、電氣的に圧力を調節する背圧調整器 (Back pressure regulator: BPR) を設置し、BPR間に圧力差（差圧、廃棄側>カラム側）を設けることでスプリット比を調節する新規スプリットフロー技術を考案した。幅広い極性の農薬成分を用いた検証の結果、スプリット比は差圧に比例して連続的に制御されること、またその挙動は成分の極性に依存しないことが示された。次いで本結果から導出された関係式と検証から、移動相条件、カラム条件もスプリット比に影響を与える要素であることを明らかにした。加えて、カラムのすぐ後ろの流路にポンプから溶媒を追加することにより、スプリット比を微調節できることも明らかにした。

## 第三章 新規スプリットフロー技術に基づくSFE-SFCシステムの開発

開発した新規スプリットフロー技術を組み込んだSFE-SFC/MSを用いて、SFEからSFCカラムに導入される抽出物量を減少させた。導入量の減少に伴い、試験に用いた農薬成分のうち、特に分析カラムで保持が弱い成分のピーク形状や保持が改善した。この結果より分析カラムで保持が弱い成分は、抽出物導入量に影響を受けることが示唆された。そこでスプリットに加え、分析カラムの前に分析カラムと異なる分離特性を持つカラムを直列に接続することで、分析カラムで保持が弱い成分のみの選択的保持を達成した。またオンラインシステムは、全ての工程が接続されているため、正確な測定のために重要な指標である抽出効率の算出は困難であるが、インジェクターから注入した標準のバンド幅を物理的に拡張して導入する標準導入システムの開発によって、抽出効率算出可能なシステムとした。最後に、構築したシステムを食品中残留農薬分析に適用し実用性を評価した。その結果、従来法より高いサンプルスルーットで、要求感度を確保した、幅広い極性の農薬成分および光分解性農薬成分の測定を達成した。

## 第四章 総括

本博士研究では、SFEからSFCに導入する抽出物量を制御するための新規スプリットフロー技術を開発し、SFE-SFCシステムの実用化のための基盤技術を構築した。まず、考案した新規スプリットフロー技術の概念を実証し、制御要因を明らかにした。ついで、新規スプリットフロー技術を組み込んだSFE-SFCシステムを用いて、スプリットやカラムの追加接続の分離への効果を検証し、抽出効率算出のための標準導入システムを開発した。構築した技術は、SFE-SFCシステムの実用化のための確実な一歩であり、今後は、高精度ハイスルーットスクリーニングが重要な食品中残留農薬分析への本システムの適用が期待される。

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 酒 井 美 穂 )			
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	教授	福岡英一郎
	副 査	教授	内山進
	副 査	教授	永井健治 (産業科学研究所)
	副 査	教授	大政 健史
	副 査	教授	藤山 和仁 (生物工学国際交流センター)
	副 査	教授	村中 俊哉
	副 査	教授	紀ノ岡 正博

## 論文審査の結果の要旨

第一章では緒論として超臨界流体を媒体としたクロマトグラフィーの有用性と質量分析計を連結したシステム構築の意義と問題点を論じている。超臨界流体とは物質の臨界点を越えた温度、圧力下にある物質のことを指し、その粘度は気体様に低く、拡散係数は気体と液体の中間をとる。また、密度は気体に比べてはるかに大きく、液体並みである。このような超臨界流体の特徴は、液体に匹敵する溶解力でより迅速な処理を可能とする。中でも超臨界流体二酸化炭素 (Supercritical fluid carbon dioxide: SCCO<sub>2</sub>) は、室温付近の臨界温度であること、安価で低毒性であることから最も利用されている。SCCO<sub>2</sub>の溶解性は *n*-ヘキサンと同程度とされるが、モディファイアと呼ばれる極性溶媒との混和が可能であり、溶出力を大きく変化させることができる。このような特性を持つ SCCO<sub>2</sub>は成分分析プロセスにおける抽出 (Supercritical fluid extraction: SFE) やクロマトグラフィー (Supercritical chromatography: SFC) に広く利用されている。一方、分析プロセスの効率化と精度向上を目的とした SFE と SFC の オンライン接続は 1980 年代から検討されてきたが、未だ実用化に至っていない。オンライン接続とは、抽出装置と分離装置を直接接続した閉鎖系システムのことを指し、成分分析プロセス全体の完全自動化により、測定作業全体の簡便化と時間短縮に起因したサンプルスループットの向上を始め、分析対象成分の揮発によるロスや酸素や光による変性、プロセス由来の試料汚染のリスク低減も期待される。その抽出・分析プロセスは大きく以下のとおりである。1) SFE で抽出された抽出溶剤を含む抽出物は、SFC に移送される途中で、目的化合物がとどまるよう選択されたプレカラム (あるいは分析カラムそのもの) によって選択的に捕捉され、2) 抽出の終了と同時に流れ込む移動相によってカラム内を移動し分離される。しかしながら、プレカラムに流れ込む抽出溶剤の量やモディファイア濃度がプレカラムの許容範囲を超えた場合に、成分を十分に捕捉できず、結果的にピーク形状が悪化するという課題があった。またオンラインシステムは、抽出した試料のごく一部を導入する従来のオフラインシステムとは対照的に、ほぼ全ての抽出物が分離カラムへ導入されるため、カラムや検出器において深刻な汚染を引き起こすという問題もあった。さらに、抽出から検出までの工程が繋がっているため、測定精度に関わる SFE における抽出効率の算出ができないなどの潜在的な課題も残っていた。本博士研究では、SFE-SFC システムの実用化のための基盤技術を構築することを目的とし、プレカラムへの良好な成分捕捉およびカラムや検出器へのオーバーロードを低減する手段として、SFE から SFC へ導入する抽出物量を調節する新規スプリットフロー技術を開発した。

第二章では、SFE-SFC システムの実用化に資する新規スプリットフロー技術の開発について論じた。スプリットを行う場合、一般的には T 字配管を使って流れを分岐する方法が用いられる。この方法では、スプリット比は両流路の配

管の内径や長さを変更することにより調整される。しかし本研究では、SFE から SFC に導入する抽出物量を連続的に調節して最適化することを目的とするため、本技術を採用するのは非常に困難であった。そこで、SFC カラム前で分岐した 2 つの流路（一方は廃棄側流路、他方はカラム側流路）に、流量と独立して電子弁で出口圧力を調節する背圧調整器（Back pressure regulator: BPR）を設置して、両流路に任意に圧力差（差圧）を設けることでカラム側に流れる量を制御する技術を考案した。流れは、出口圧力が低い、抵抗の少ない方に誘導されると考えたため、廃棄側圧力を固定し、カラム側圧力を廃棄側圧力より低くなるよう設定した。またスプリット挙動は、幅広い極性を持つ農薬 9 成分を用いて評価し、カラムへの導入割合で示した。その結果、カラム導入割合は差圧に比例して増加し、その傾向は成分の全てで同じであった。このことは、廃棄側よりカラム側の圧力を低く設定することで、流れをカラム側へ誘導でき、その導入割合は差圧に依存して制御できること、またその挙動は化合物の特性に依存しないことを示唆した。次いで本結果から導出された関係式と検証から、移動相条件、カラム条件もカラム導入割合に影響を与える要素であることを明らかにした。加えて、カラムのすぐ後ろの流路にポンプから溶媒を追加することにより、スプリット比を微調節できることも明らかにした。なお本研究は、BPR 差圧ならびにポンプからの溶媒追加によって、超臨界流体のスプリット比を制御した初めての報告である。

第三章では、新規スプリットフロー技術に基づく SFE-SFC システムの開発について論じた。第二章で開発した新規スプリットフロー技術を組み込んだ SFE-SFC/MS を用いて、SFE から SFC カラムに導入される抽出物量の分離への影響を検証した。その結果、SFC へ導入される抽出物量の減少は、全ての化合物のピーク形状あるいは保持を改善した。さらに分析カラムの前に分析カラムと異なる分離特性を持つカラムを接続することにより、分析カラムで保持が弱い化合物の保持のみを改善し、分析カラムで保持の強い成分の保持に影響を与えない理想的な分離を得ることができた。次いで、SFE-SFC システムにおける SFE 抽出効率の算出法を検討した。抽出効率は、一般に抽出工程を介さずに得られた標準物質（標準）と抽出工程を介して得られた標準添加試料（添加試料）の量を比較することで算出できる。しかしながら、SFE-SFC システムにおいては、SFC に注入される溶解溶媒や溶媒量、および注入バンド幅などの注入条件とマトリクス条件の違いにより、二つの測定値の正確な比較ができないという課題があった。そこで標準を、陰性試料の抽出中にインジェクターから注入し、注入バンド幅を SFE に匹敵するバンド幅に物理的に拡張して導入することにより、両者の注入条件ならびにマトリクス条件を同一化し、抽出効率の算出を達成した。最後に、構築したシステムの実用性を、高精度ハイスループット分析が重要とされる食品中残留農薬分析で評価した。その結果、従来法より高いサンプルスループットで、残留農薬分析で必要とされる感度を確保した、幅広い極性の農薬成分および光分解性農薬成分の測定が可能であった。

第四章では本研究を総括している。本研究では、超臨界流体の流れを制御する新規スプリットフロー技術を開発し、SFE-SFC システムの実用化のための基盤技術を構築した。まず、SFE から SFC に導入する抽出物量を制御するための新規スプリット技術を考案し、制御要因を明らかにした。ついで、SFE-SFC システムにおけるスプリットやカラムの追加接続の効果を検証し、SFE 抽出効率算出のためのシステムを開発した。本博士研究における技術構築は、SFE-SFC システムの実用化のための確実な一歩であり、高精度ハイスループットスクリーニングが重要な分野、特に食品中残留農薬分析や臨床検査などへの SFE-SFC システムの適用が期待される。

以上のように、本論文は超臨界流体抽出ならびに中臨界流体クロマトグラフィー/質量分析の生体成分分析への応用の道を大きく開くものである。よって、本論文は博士論文として価値あるものとして認める。