

総合論文水系液体クロマトグラフィー分離場における
水の状態と分離選択性渋川 雅美¹Studies on the States of Water in Separation Media of Aqueous Liquid
Chromatography in Relation to Separation SelectivityMasami SHIBUKAWA¹¹ Department of Applied Molecular Chemistry, College of Industrial Technology, Nihon University, 1-2-1, Izumi-cho, Narashino-shi, Chiba 275-8575

(Received 5 September 2005, Accepted 24 November 2005)

The states of water incorporated in a cross-linked dextran (Sephadex G-10, G-15), polyacrylamide (Bio-Gel P-2, P-4), a polyethylene glycol (TSKgel Ether-250), cross-linked poly(vinyl alcohol) (Toyopearl HW-40S, 50S, 55S, and 75S), and polystyrene-divinylbenzene copolymer gel packings (TSKgel Styrene-60 and Styrene-250) were investigated by means of differential scanning calorimetry. It was found that there were three types of water in these gels; non-freezing water, intermediate or freezable bound water and free or bulk water. The amount of water that functions as the stationary phase in the column packed with the each gel was also estimated by a liquid chromatographic method. The estimated amount of the stationary phase water is in good agreement with the sum of the amount of non-freezing water and that of intermediate water for Sephadex G-10, G-15, Bio-Gel P-2, P-4, and Toyopearl HW-40S, 50S, 55S, while it agrees with the amount of only non-freezing water for TSKgel Ether-250 and Toyopearl HW-75S. This means that the stationary phase water consists of non-freezing water and freezable bound water for the former hydrophilic polymer gels, while only non-freezing water functions as the stationary phase in the latter two gels. On the other hand, no water in the polystyrene-divinylbenzene copolymer gels functioned as the stationary phase. This result can be attributed to the differences in the affinity of the polymer matrix for water molecules and in the structure of the gels; the hydrophilic polymer gels containing a polymer matrix at relatively high concentrations have a homogeneous gel phase, whereas the others have a heterogeneous gel phase consisting of hydrated polymer domains and macropores with a relatively hydrophobic surface. The freezable bound water in Toyopearl HW-75S and TSKgel Ether-250 as well as that in TSKgel Styrene-250 may be water isolated in pores of the hydrophobic domains.

Keywords : states of water; liquid chromatography; differential scanning calorimetry; polymer gel packings; separation selectivity.

1 はじめに

含水高分子ゲルは、種々の無機及び有機化合物に対して異なる収着性を示すことが知られており、透析や逆浸透な

どの各種分離膜や液体クロマトグラフィー (LC) 用カラム充填剤などの分離媒体として広く用いられている。これらの含水高分子ゲルにおいては、ゲル内の水が自由水とは異なる状態をとっており、この水の状態や性質の解明が分離機構を理解する上で重要であることが以前から指摘されている^{1)~6)}。しかし、高分子ゲル内のどのような状態の水

¹ 日本大学生産工学部応用分子化学科: 275-8575 千葉県習志野市泉町 1-2-1

が分離に寄与しているのか、また水の状態とゲルの分離機能はどのような関係にあるのかなど明らかにされていない点が多い。水溶液中の化合物の分離を対象として高分子ゲルを使用する分離法においては、この問題は特に重要であり、その分離機構が常に関心をもたれてきた。LCももちろん例外ではなく、著者がその初期において携わった水系サイズ排除クロマトグラフィー（ゲル透過クロマトグラフィー）も水の機能に関する研究が活発に行われた分野の一つである。更にイオン交換クロマトグラフィーや逆相クロマトグラフィーにおいても、充填剤周辺の水の構造やそれが当該液体クロマトグラフ系の分離機能にどのような影響を与えているのかを明らかにすることは分離機構を明らかにする上で重要であると同時に、魅力ある課題である。一例として、水系サイズ排除クロマトグラフィーにおける溶質の保持機構に関する研究において、充填剤内の水の状態がどのように考察されてきたかを概観してみよう。

混合物中の各成分を分子ふるい効果に基づいて分離するサイズ排除クロマトグラフィーは、1953年 Flodin と Porath によって創案された⁷⁾。彼らの開発した架橋デキストラン（現在も Sephadex という商品名で市販されている）を充填したカラムを用いて LC を行うと、分子サイズの大きい化合物ほど速くカラム内を移動して溶出する。その後に進められた研究により、このゲルが持つ分離機構は分子ふるい効果によるものであることが明らかにされ、この方法はゲル透過クロマトグラフィーと呼ばれるようになった。すなわち、架橋デキストランは水中で膨潤して3次元網目構造を形成し、その分子次元の細孔への分子の浸透の程度によって、化合物の分離が行われると理解された。一方、どの程度の大きさの分子まで分子ふるい効果によって分離できるかに興味を持たれ、1960年代から1980年代にかけて水系のみならず有機溶媒系のサイズ排除クロマトグラフィー（ゲル浸透クロマトグラフィーと呼ばれる）に関して低分子化合物の保持機構に関する基礎的研究が活発に進められた。しかし、分子量が1000程度以下になると、サイズ排除クロマトグラフィー用の充填剤を用いているにもかかわらず、分子サイズが大きいほど保持が大きくなることのほうがむしろ多くなる。また、分子ふるい効果のみが寄与しているならば、溶質の保持体積 V_R はカラム内の全液相体積 V_t を超えることはないはずであるが、実際には V_t 以上の保持体積が得られることが多い⁸⁾。これらは分子ふるい効果よりも吸着や分配がその保持挙動を支配しているためであると考えられ、分子ふるい効果以外の相互作用は二次効果と総称された⁹⁾。

ここで、これらの二次効果と分子ふるい効果の保持体積への寄与をどのように評価するべきかに関して幾つかの考え方が提起された。1つは、分子ふるい効果と充填剤である高分子ゲル表面への溶質分子の吸着を組み合わせたもの

で、吸着が分子ふるい効果によって制限を受けると考えるものである¹⁰⁾。すなわち、分子ふるい効果に基づく溶質の分配係数を K_{SEC} 、吸着に基づく分配係数を K_{ads} とすると、保持体積は次式で表される。

$$V_R = V_0 + K_{SEC}(V_i + K_{ads}A) \quad (1)$$

ここで、 V_0 は充填剤ゲル粒子外部の液相体積、 V_i はゲル粒子内部の液相体積、そして A はゲル粒子細孔内全表面積である。また、 K_{ads} は以下のように定義される。

$$K_{ads} = \frac{\text{ゲルの単位表面積当たりの溶質の吸着量}}{\text{移動相中の溶質濃度}} \quad (2)$$

$K_{ads} = 0$ とおけば、サイズ排除クロマトグラフィーにおける保持を与える通常の式になることが分かる。また、カラム内全液相体積 V_t は次式で与えられる。

$$V_t = V_0 + V_i \quad (3)$$

このモデルでは、ゲル粒子に取り込まれた液相はゲル粒子外部の液相と同じ状態にあり、ゲル粒子内部への溶質分子の浸透はあくまでも分子ふるい効果によって受ける制限の程度によって決まると仮定されている。これに対して Heitz は、ゲル粒子に取り込まれた液相は、ゲルを構成する高分子との相互作用によってゲル粒子外部の液相とは異なる状態にあるはずであると考え、サイズ排除クロマトグラフィーにおける溶質の保持機構は、このゲル粒子内部の液相への分配が分子ふるい効果によって制限されるものであると考えるべきであると主張した¹¹⁾¹²⁾。すなわち、保持体積は次式で与えられるとした。

$$V_R = V_0 + K_{SEC}K_D V_i \quad (4)$$

ここで、 K_D はゲル粒子外部の液相と内部液相との間の溶質の分配係数である。Heitz のモデルは、水を移動相溶媒とする水系サイズ排除クロマトグラフィーについて提唱されたもので、ゲル粒子内部の水相を固定相と考えている。

一方、Saitoh らは、有機溶媒系サイズ排除クロマトグラフィーを対象とした研究において、ゲルを構成する高分子と移動相として用いる溶媒との混合物（ここでは、これをゲル相と呼ぶことにする）を固定相として保持機構を解析した¹³⁾。このモデルでは溶質の保持体積は次式で与えられる。

$$V_R = V_0 + K_{SEC}K_D' V_s \quad (5)$$

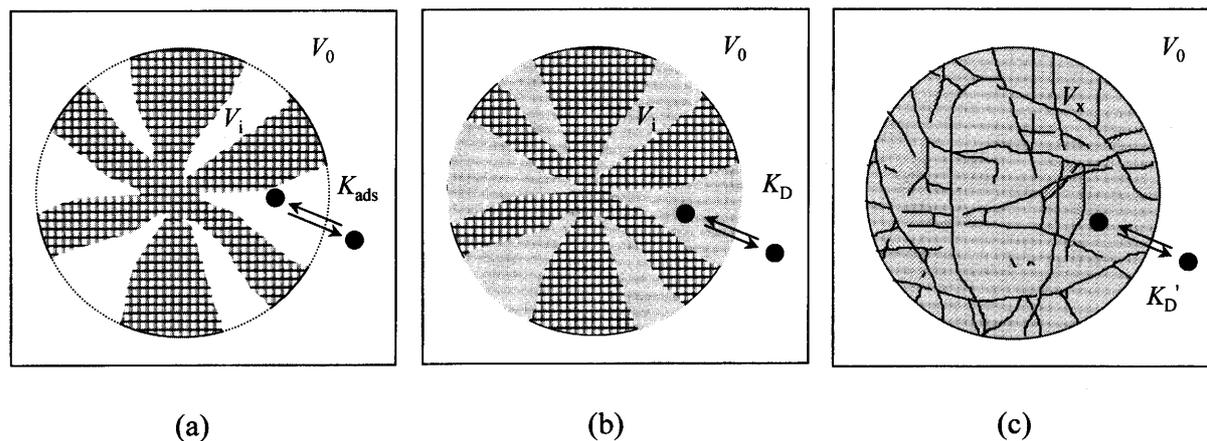


Fig. 1 Schematic representation of some adsorption and partition models in water incorporated polymer gels
(a) adsorption, (b) partition into the water phase in gel pores, (c) partition into the gel phase

ここで、 K_D' はゲル粒子外部の液相とゲル相との間の溶質の分配係数であり、また V_x はゲル相の体積である。すなわち、 V_x はゲルの基材高分子自身の体積 V_g とゲル粒子内部の液相体積 V_i の和で与えられる。

$$V_x = V_g + V_i \quad (6)$$

Saitoh ら¹³⁾ 及び Yamamoto ら¹⁴⁾ の研究グループは、正則溶液論をこのモデルに適用し、ポリスチレン-ジビニルベンゼン共重合体ゲルやポリ酢酸ビニルゲルなどを用いた有機溶媒系サイズ排除クロマトグラフィーの分離機構を説明することに成功している。

上記の3つのモデルは、それぞれ Fig. 1 (a), (b), (c) のように図示することができる。これらのモデルは、そのどれもが溶質保持の一面を描写している可能性がある。しかし、サイズ排除クロマトグラフィーに限らず、移動相溶媒が充填剤との相互作用によって一部が固定相として機能する可能性はあらゆる LC 系において存在する。そしてそれがどのように溶質の保持に影響を与えるのかを知ることは保持機構を明らかにする上で非常に重要である。

本総合論文では、主に水を移動相として用いる LC に着目し、各種の親水性及び疎水性高分子ゲルの溶質分離選択性とゲル内の水の状態との関係を中心に、著者らがこれまで行ってきた LC と示差走査熱量測定 (DSC) とを用いて得られた研究の結果を紹介する。更に高分子水溶液を抽出媒体とする水性二相抽出に関する研究より得られた結果に基づいて、ゲルの構造を考察した。

2 実験

2.1 試薬及びカラム充填剤

試薬は、特に断らない限り市販の特級試薬をそのまま使

用した。実験で使用した水はすべて Milli-Q システム (日本ミリポア製) で精製した。

高分子ゲル充填剤としては、デキストラン (DEX) ゲルである Sephadex G-10 及び G-15 (40~150 μm , Pharmacia Fine Chemicals 製), ポリアクリルアミド (PAA) ゲルである Bio-Gel P-2 及び P-4 (200~400 mesh, Bio-Rad Laboratories 製), ポリエチレングリコール (PEG) ゲルである TSKgel Ether-250 (5 μm , 東ソー製), ポリビニルアルコール (PVA) ゲルである TSKgel Toyopearl HW-40S, HW-50S, HW-55S, HW-75S (20~40 μm , 東ソー製), そしてポリスチレン-ジビニルベンゼン共重合体 (PS-DVB) ゲルである TSKgel Styrene-60 及び Styrene-250 (5 μm , 東ソー製) を用いた。これらの充填剤の基本構造を Fig. 2 に示す (TSKgel Ether-250 と TSKgel Toyopearl HW シリーズについては架橋剤が明らかにされていない)。Dextran-40 (分子量 = 4×10^4 , 東京化成製), 又は Blue Dextran 2000 (分子量 = 2×10^6 , Pharmacia Fine Chemicals 製) は、カラム内のゲル充填剤粒子外部の体積 (V_0) を測定するために用いた。また、TSKgel Styrene-60 及び Styrene-250 を充填したカラムについては、カラム内全液相体積を重水 (Merck 製) により測定した。

2.2 液体クロマトグラフィー

カラムは TSKgel Toyopearl HW-75S (300 mm \times 8 mm i.d., 東ソー製充填カラム) を除いて、すべて実験室で充填して作製した。Sephadex G-10, G-15, Bio-Gel P-2, P-4, TSKgel Toyopearl HW-40S, 50S, 55S は、水で完全に膨潤させた後、内径 8 mm, 長さ 100 mm のステンレス管にスラリー充填した。また、TSKgel Ether-250 の充填は内径 4.6 mm, 長さ 150 mm のステンレス管を用いて同様に行った。一方、TSKgel Styrene-60 及び Styrene-250 は以下の

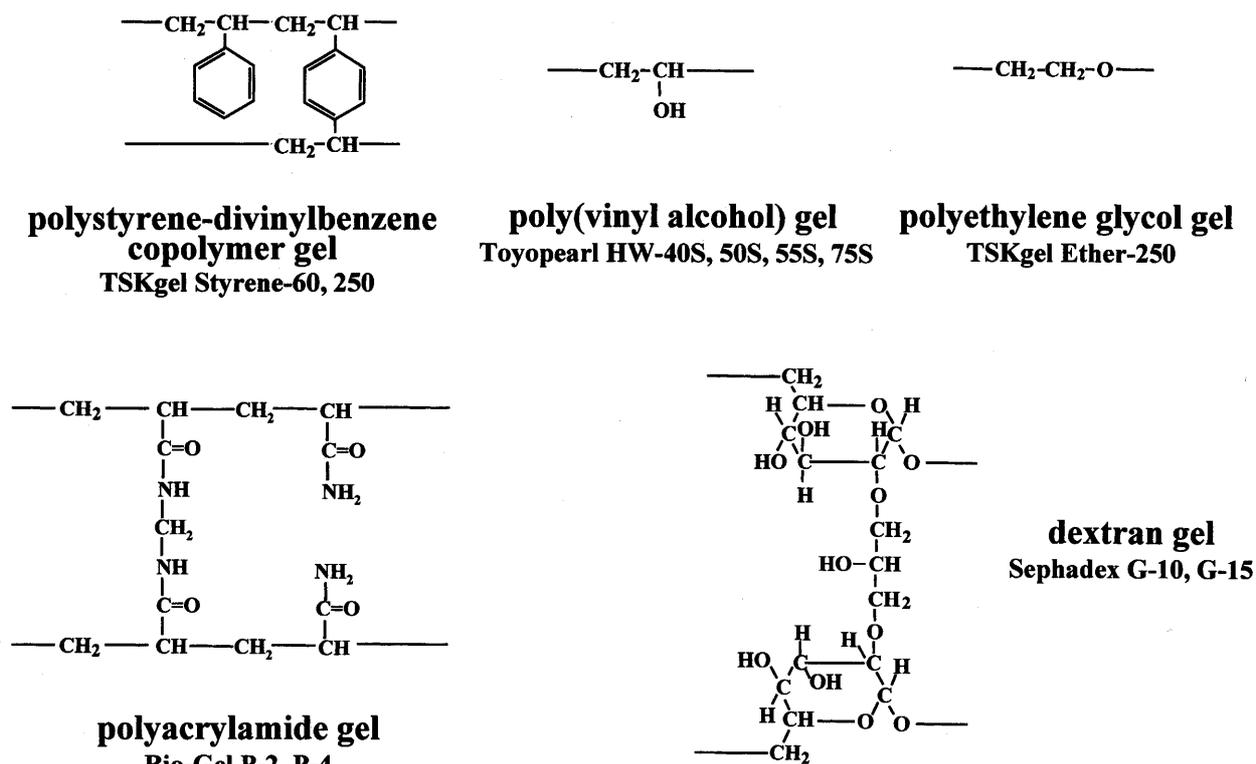


Fig. 2 Structures of polymer gel packings used in this study

ようにして内径 4 mm, 長さ 250 mm のステンレス管に充填した。まず, 40% (v/v) メタノール水溶液を用いてこれらの充填剤のスラリー溶液を調製し, パッカーを装着したカラムに同じ溶液で充填した。次いで, メタノール濃度を 20% (v/v), 更に 10% (v/v) と低下させた水溶液をカラムに通液し, 最後に水を流してメタノールを完全にカラムから除去した。水でカラム内を完全に置換できたかどうかは, カラム出口からの流出液を熱伝導度検出ガスクロマトグラフィーに供してメタノールが検出できないことを確認することによって判断した。最後に, パッカーを取り外し, カラムエンドフィッティングを装着した。

カラム温度は 35°C に設定し, 検出器としては紫外可視吸光検出器又は示差屈折率検出器を用いた。移動相としては特に断らない限り水を使用し, カラム内移動相体積を測定する場合にのみ 0.1 mol l⁻¹ の NaCl 及び NaClO₄ 水溶液を用いた。

2.3 示差走査熱量測定

高分子ゲル中の水の相転移挙動を, 冷却装置を備えたセイコーインスツルメンツ製示差走査熱量計 DSC-120 により測定した。DSC 測定用の含水ゲル充填剤試料は, カラムからゲル充填剤を取り出し, その 1~8 mg をアルミニウム製密封容器に入れて完全に密封した。試料の含水量は常温下シリカゲルデシケーター中に試料を所定の時間入れ

て乾燥するか, あるいは乾燥機中 363 K で加熱することにより調整した。これを 298 K から 1 K min⁻¹ 又は 2 K min⁻¹ で 223 K まで冷却し, 10 分間 223 K に保った後, 1 K min⁻¹ の速度で 298 K まで昇温することによって DSC 曲線を得た。試料中の水の凝固点及び融点は純水と高速液体クロマトグラフィー (HPLC) 用のアセトニトリルで, またエンタルピー値はインジウム標準物質により校正した。また, DSC 測定の前後に試料を入れたアルミニウム密閉容器の重量を測定して, 測定中に水分量に変化していないことを確認した。

DSC 測定後, 試料容器にピンセットで穴を開け, 363 K に設定した乾燥機内で充填剤ゲルを乾燥させた。すべての充填剤について, 10 時間以内に恒量に達することを確認した。個々の試料中の全水分量, w_t (g g⁻¹ 乾燥ゲル) は次式により求めた。

$$w_t = W_w / W_g \quad (7)$$

ここで, W_w と W_g は, それぞれ試料中の水の重量及び乾燥高分子ゲルの重量である。

3 結果と考察

3.1 分離機能水量の測定

含水高分子ゲル内に取り込まれた水が, 自由水 (バルク

水とも呼ばれる)とは異なる状態にある(異なる構造をとっている)ことは、DSC^{1)5)6)15)~32)}のほか、核磁気共鳴法(NMR)^{30)~33)}やその他の分光法^{34)~40)}を用いた多くの研究によって指摘されている。中でも、DSCはゲル中で異なる状態にある水の量を測定することが可能であることから、最も多用されている。例えば含水高分子ゲルをDSC測定に供すると、一般に273 Kで融解する自由水のほかに、測定温度範囲内で相転移を示さない不凍水と273 K以下に相転移点を示す中間水(凍結結合水、拘束水などと呼ばれることもある)が観測される⁴¹⁾。更に融解エンタルピーからそれぞれの水の量を測定することができる。これらの水は、主に高分子鎖との相互作用によって生じるものと考えられており、これが溶質の透過(膜分離)や保持(LC)に寄与しているのではないかと推測されている。しかし、それらの水が含水高分子ゲルの持つ分離選択性にどのように寄与しているかはほとんど明らかにされていない。数少ない含水高分子ゲルの分離選択性とゲル中の水の状態との関係を明らかにすることを試みた研究の中で、Higuchiらの研究⁵⁾は、自由水と異なる状態にある2種類の水(不凍水と中間水)への溶質の溶解度測定を初めて試みたものとして評価できる。ゲル中のこれらの水が自由水と異なる溶解度を示すということは、すなわちその水が分離に寄与していることを意味するからである。Higuchiらは、水で膨潤したポリ(ビニルアルコール-イタコン酸)共重合体膜内の中間水への尿素と塩化ナトリウムの溶解度を、中間水の融点降下現象を解析することにより測定した。更にその値を用いて、バッチ法から得た溶液相-高分子膜間の溶質の分配係数から不凍水への溶解度を間接的に求めた。その結果、中間水への尿素と塩化ナトリウムの溶解度は自由水への溶解度とほぼ等しく、ポリ(ビニルアルコール-イタコン酸)共重合体含水膜への溶質の分配の違いは不凍水への溶解度の差によるものと結論づけた。Higuchiらの方法は、原理的には中間水への溶質の溶解度の直接測定を可能にするものである。しかし、融点降下を利用したこの方法の感度は十分に高いものとはいえない。実際、Higuchiらは0.02及び0.2 mol l⁻¹の濃度では融点降下を観測できず、2 mol l⁻¹溶液についての測定値を用いている。また、バッチ法による分配係数の測定は、特に分配係数の小さい溶質については精度が低い。

一方、LCはバッチ法に比べてより高精度で分配係数の測定を行うことができる。ただし、そのためには正確な移動相体積の測定が求められる。すなわち、移動相として機能する水と固定相として機能する水を明確に区別できなくてはならない。著者らは、分配クロマトグラフィーにおける電荷の等しい2つのイオンの保持係数 k の比は、移動相中の電解質の種類に依存せず一定であることを理論的に示し⁴²⁾⁴³⁾、これに基づいて独自に考案した分配クロマトグ

ラフィーのカラム内移動相体積(V_m)測定法を提案した⁴⁴⁾。この方法は、イオンをプローブとし、その移動相-固定相間の分配に基づいて移動相体積を求めるもので、混合溶媒系のみならず水のみを移動相溶媒として用いた系についても正しい移動相体積を与えることを明らかにした^{44)~48)}。ただし、以下の条件を満たしている必要がある。

- (1) 固定相中のイオン交換基の量は少なく、被検体イオンの保持に及ぼすイオン排除あるいはイオン交換吸着の効果は、移動相にイオン強度0.1又はそれ以下で電解質を添加することによって抑制することができる。
- (2) 被検体イオンと対イオンの会合は、移動相と固定相のいずれにおいても無視できる。
- (3) イオンのサイズは小さく、イオンの保持に及ぼすサイズ排除効果は無視できる。
- (4) 被検体イオンの濃度は、溶離電解質の濃度に比べて無視できるほど小さい。

これらの条件を満たす液体クロマトグラフ系においては、次式によりカラム内移動相体積を求めることができる。

$$V_m = \frac{V_A^{YX}V_B^{WZ} - V_A^{WZ}V_B^{YX}}{V_A^{YX} + V_B^{WZ} - V_A^{WZ} - V_B^{YX}} \quad (8)$$

ここで、 V_A^{YX} は溶離電解質としてYXを用いたときの被検体イオンAの保持体積を示す。この式は、2種類の溶離電解質系で測定した2種類の被検体イオンの保持体積から移動相体積を求めることができることを示している。

カラム内の移動相体積と全液相体積 V_t を測定できれば、その差から固定相として機能している水の体積 V_s を見積もることができる。

$$V_s = V_t - V_m \quad (9)$$

12種の高分子ゲル充填剤を充填したカラムについて得られた V_t 、 V_m 、 V_s 値を、 V_0 とともにTable 1に示す^{46)~48)}。 V_m 値の測定には、溶離電解質としてNaClとNaClO₄を、また被検体イオンとして無機陰イオン(IO₃⁻、Br⁻、NO₃⁻、I⁻、SCN⁻)をそれぞれ用いた。また、 V_t 値はTSKgel Styrene-60及びStyrene-250を充填したカラムについては、重水の保持体積に等しいとして求めたのに対し、他のカラムについては次式に基づいて計算した。

$$V_t = \{W_t(c) - W_g(c)\} / \rho \quad (10)$$

ここで、 $W_t(c)$ と $W_g(c)$ はそれぞれカラム内の全物質重量と乾燥ゲルの重量であり、 ρ は水の密度である。PS-DVBゲル以外の充填剤についてこの方法を用いたのは、

Table 1 V_t , V_m , V_s and V_0 values (ml) for the columns packed with various polymer gel packings

Polymer gel	V_t	V_m	V_s	V_0
Bio-Gel P-2	3.94	1.97 ± 0.09	1.97 ± 0.09	1.44
P-4	4.50	2.87 ± 0.44	1.63 ± 0.44	1.88
Sephadex G-10	3.88	2.29 ± 0.13	1.59 ± 0.13	1.90
G-15	4.01	2.33 ± 0.05	1.68 ± 0.05	1.87
Toyopearl HW-40S	3.79	2.01 ± 0.11	1.78 ± 0.11	1.35
HW-50S	4.20	2.90 ± 0.09	1.30 ± 0.09	1.43
HW-55S	4.41	3.42 ± 0.06	0.99 ± 0.06	1.44
HW-75S	12.50	11.62 ± 0.05	0.79 ± 0.05	5.58
TSKgel Ether-250	1.88	1.43 ± 0.02	0.45 ± 0.02	0.61
TSKgel Styrene-60	1.32	1.25 ± 0.05	0.06 ± 0.05	1.34
Styrene-250	2.39	2.42 ± 0.09	-0.03 ± 0.09	1.23

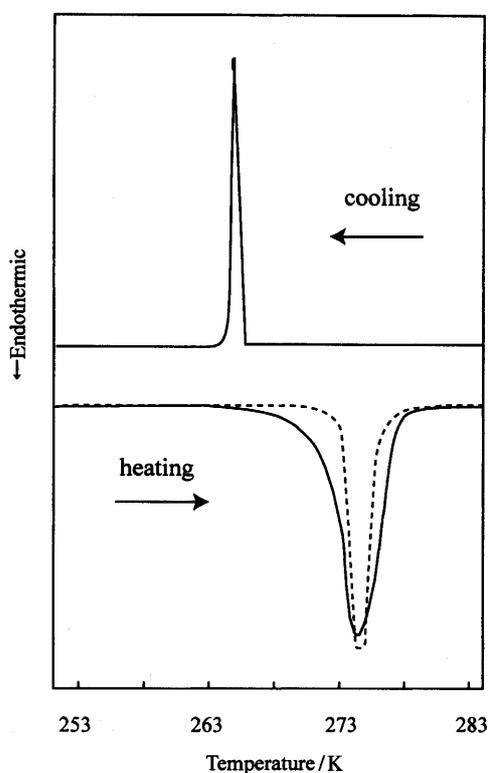


Fig. 3 DSC curves of water incorporated in Toyopearl HW-40S

Broken line denotes the DSC curve for pure water.

重水素と充填剤表面の水酸基の水素とが同位体交換し、重水の保持体積が V_t より大きくなることが報告されているためである⁴⁹⁾。

それぞれのカラムについて V_m と V_0 を比較すると、TSKgel Styrene-60 を除いて、すべて $V_m > V_0$ であることが分かる。これは充填剤粒子内部に取り込まれた水の一部 ($V_m - V_0$) は移動相として機能していること、すなわち溶質（無機イオン）に対する親和性が充填剤粒子外部の水と同じであることを示している。一方、 V_t と V_m を比較する

と、TSKgel Styrene-60 及び 250 以外は $V_t > V_m$ であることが分かる。これは充填剤粒子内部の水の一部 ($V_t - V_m$) が固定相として機能していること、すなわち分離媒体として機能していることを示している。これに対して、TSKgel Styrene-60 では $V_t = V_m = V_0$ 、また TSKgel Styrene-250 では $V_t = V_m > V_0$ となった。これらの結果は、前者のカラムについては充填剤内に水相が存在しないこと、また後者のカラムでは充填剤の細孔内に水相が存在するが、それが固定相としては機能していないことを示している。

3.2 充填剤内に取り込まれた水の相転移挙動

上述のように、充填剤細孔内部に取り込まれた水であっても、移動相として機能する水と固定相として機能する水が存在することが明らかになった。また、TSKgel Styrene-60 と Styrene-250 ではすべての水が移動相として機能することが示唆された。そこで、これらの含水高分子ゲル充填剤内の水の相転移挙動を DSC により測定し、LC により得られた上記の結果との対応を検討した^{45)~48)}。

Fig. 3 に水で膨潤した Toyopearl HW-40S 試料の冷却及び昇温曲線を示す。収着水は純水の融点よりも低い温度で融解しはじめ、幅広い融解ピークを示した。Bio-Gel P-2, Sephadex G-10, Toyopearl HW-75S, TSKgel Ether-250, TSKgel Styrene-60 と Styrene-250 についての昇温曲線を Fig. 4 に示す。Toyopearl HW-50S, 55S, Bio-Gel P-2, P-4, Sephadex G-10, G-15 は Toyopearl HW-40S と同様の融解曲線を示したのに対し、TSKgel Styrene-60 では鋭い自由水のピークのみが、また Styrene-250 では明確に分裂した自由水と中間水のピークが観測された。更に、Toyopearl HW-75S と TSKgel Ether-250 試料では自由水のピークに中間水のピークが重なった形の昇温曲線が得られた。これに対して、冷却曲線においてはすべての試料について Fig. 3 に示したように鋭い 1 本のピークが観測された。これは、過冷却現象により中間水が自由水と同時に凝固するためと推測される。このため、水の状態はすべて DSC 昇温曲線

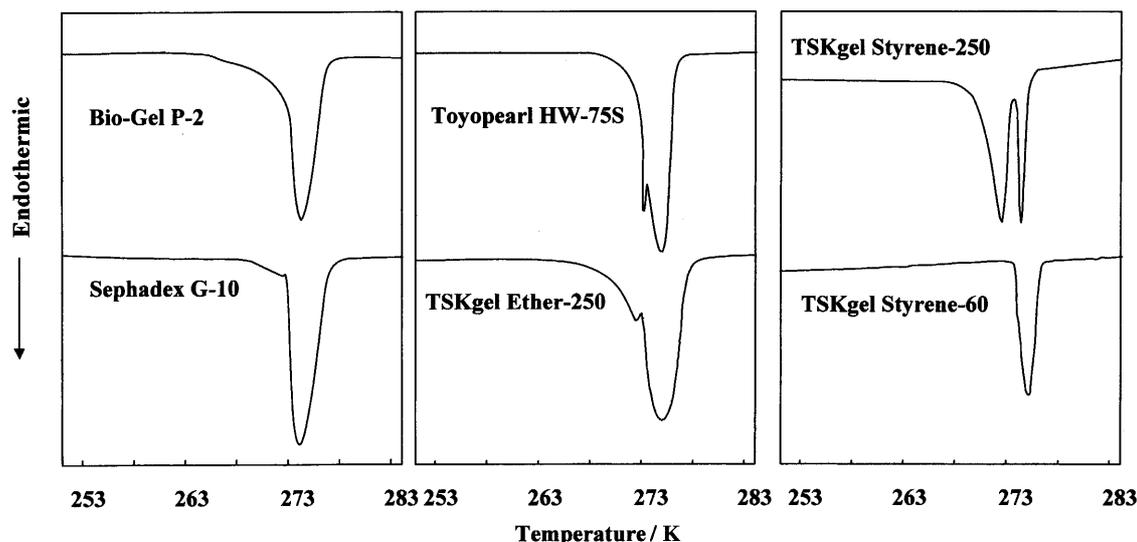


Fig. 4 DSC heating curves of water incorporated in various polymer gel packings

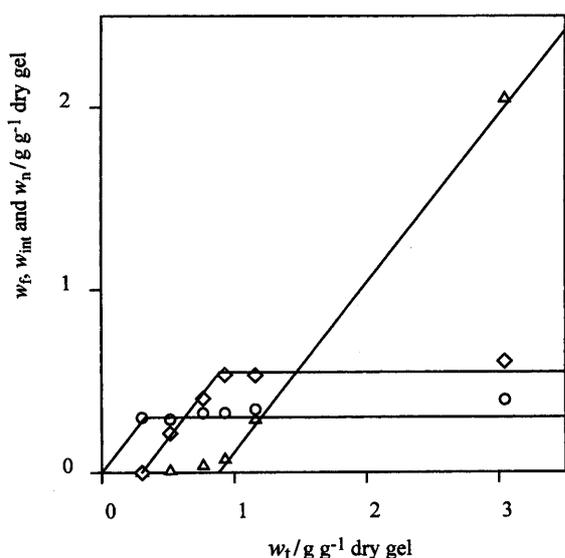


Fig. 5 Dependence of w_f , w_{int} and w_n on w_t for Toyopearl HW-50S

Symbols: \triangle , w_f ; \diamond , w_{int} ; \circ , w_n .

の解析に基づいて考察した。

DSC 曲線はすべての試料について冷却と昇温をそれぞれ 3 回繰り返して行ったが、TSKgel Styrene-60 と 250 試料を除いては再現性が得られた。そこで、試料中の自由水の含有量 w_f と中間水の含有量 w_{int} をそれぞれ以下の式に基づいて算出した。単位はいずれも乾燥ゲル充填剤 1 g 当たりの水の重量 (g) である。

$$w_f = Q(\geq 273 \text{ K}) / \Delta H_0 W_g \quad (11)$$

$$w_{int} = Q(< 273 \text{ K}) / \Delta H W_g \quad (12)$$

ここで、 Q は DSC 曲線のピーク面積から計算された融解熱量であり、 ΔH_0 と ΔH はそれぞれ 273 K 及び 273 K 以下の各温度における 1 g の水の融解エンタルピーである。273 K 以下のピークは 1 K ごとに分割して融解熱量を計算し、それぞれ対応する温度における $\Delta H^{(5)}$ を用いて中間水量を求めた。一方、不凍水量 w_n は全水分量 w_t から w_{int} と w_f を差し引いて求めた。

$$w_n = w_t - w_{int} - w_f \quad (13)$$

Fig. 5 に、Toyopearl HW-50S 試料について得られた w_f , w_{int} , w_n の w_t に対する依存性を示す。自由水量は全水分量の減少とともに減少するが、自由水が存在している間は中間水と不凍水の量は一定であり、自由水が消失すると中間水が減少し始める。次いで中間水が消失すると不凍水が減少している。Toyopearl HW-40S, 55S, 75S, TSKgel Ether-250, Bio-Gel P-2, P-4, そして Sephadex G-10, G-15 についても、 w_f と w_n の値はそれぞれ異なるものの、同様の結果が得られた。これは、これらの充填剤に取り込まれた水が、少なくとも 3 つの異なる状態で存在していることを示している。

一方、TSKgel Styrene-250 試料ではこれとは全く異なる結果が得られた。Fig. 4 に示したように、TSKgel Styrene-250 試料は自由水と中間水に対応する 2 つの融解ピークを示したが、これら 2 つのピーク面積は測定を重ねるごとに変化した。Fig. 6 に凍結・融解を 3 回繰り返したときの TSKgel Styrene-250 試料中の水の昇温曲線を示す。この図から、測定を繰り返すごとに中間水が減少するのに対して自由水が増加していることが分かる。この現象は、この試料中の中間水が TSKgel Styrene-250 充填剤細孔内に取り込

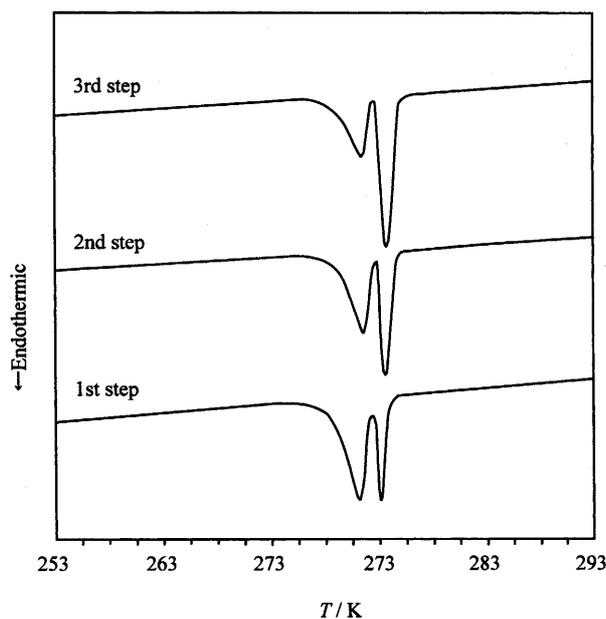


Fig. 6 DSC heating curves of water incorporated in TSKgel Styrene-250

$w_t = 0.60 \text{ g g}^{-1}$ dry gel. [Reprinted from *J. Chromatogr. A*, **1010**, 177 (2003), T. Baba, M. Shibukawa, T. Heya, S. Abe, K. Oguma, "Liquid Chromatography and Differential Scanning Calorimetry Studies on the States of Water in Polystyrene-Divinylbenzene Copolymer Gels", Copyright (2003), with permission from Elsevier]

Table 2 $w_f + w_{int}$ values (g g^{-1} dry gel) for TSKgel Styrene-250 samples obtained in three consecutive measurements

w_t	$w_f + w_{int}$		
	1st	2nd	3rd
2.46	2.37	2.38	2.37
2.38	2.25	2.25	2.30
2.01	1.89	1.94	1.95
1.71	1.57	1.59	1.56
1.50	1.22	1.26	1.30
1.15	0.93	0.96	0.98
0.60	0.48	0.52	0.55
0.39	0.33	0.34	0.35

[Reprinted from *J. Chromatogr. A*, **1010**, 177 (2003), T. Baba, M. Shibukawa, T. Heya, S. Abe, K. Oguma, "Liquid Chromatography and Differential Scanning Calorimetry Studies on the States of Water in Polystyrene-Divinylbenzene Copolymer Gels", Copyright (2003), with permission from Elsevier]

まれた水であり、凍結もしくは融解の過程で細孔内から放出されて自由水となるために起こったものと考えられる。これを検証するために、全水分量の異なる種々の TSKgel Styrene-250 試料を調製し、それぞれについて中間水量と不凍水量を測定して、その合計値を 3 回の連続する昇温曲線から得られたものについて比較した。その結果を Table 2 に示す。Fig. 6 に示したように、測定を繰り返す

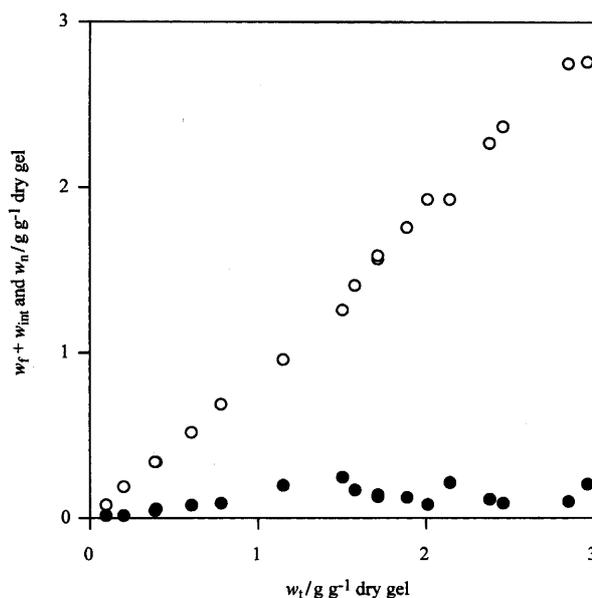


Fig. 7 Dependence of w_n and the sum of w_f and w_{int} on w_t for TSKgel Styrene-250

Symbols: ○, $w_f + w_{int}$; ●, w_n . [Reprinted from *J. Chromatogr. A*, **1010**, 177 (2003), T. Baba, M. Shibukawa, T. Heya, S. Abe, K. Oguma, "Liquid Chromatography and Differential Scanning Calorimetry Studies on the States of Water in Polystyrene-Divinylbenzene Copolymer Gels", Copyright (2003), with permission from Elsevier]

と中間水量は徐々に減少する一方で自由水量が増加する。しかし、両者の和は 1 回目、2 回目、3 回目の測定においてほとんど同じ値を示した。この結果は、前述の仮説を支持するものであり、TSKgel Styrene-250 細孔内の水が、DSC 測定の凍結あるいは融解の過程で外部に放出されていることを示している。 w_n 及び $w_{int} + w_f$ の全水分量に対する依存性を Fig. 7 に示す。この図から不凍水量は約 0.1 g g^{-1} 程度と非常に小さい値であることが分かる。TSKgel Styrene-60 では中間水が観測されず、不凍水量は TSKgel Styrene-250 と同様、非常に小さい値であった。この結果は、Table 1 に示した TSKgel Styrene-60 カラムでは $V_t = V_m = V_0$ であるという LC より得られた結果、すなわちカラム内のすべての水が充填剤粒子外部に存在し、移動相として機能するという結論とよく対応している。TSKgel Styrene-60 は細孔径が有機溶媒での膨潤状態で 60 \AA とされているが、水での充填の過程で完全に収縮したものと考えられる。また、TSKgel Styrene-250 の細孔径は同様の条件で 250 \AA であり、細孔がわずかに残ったものと思われる。この試料で観測された中間水から自由水への転換現象は、充填剤粒子の収縮が更に起こったことが一つの原因と推測されるが、これらよりも軟らかい充填剤である Sephadex や Bio-Gel ではこのような現象は見られな

Table 3 w_{int} , w_n and w_s values (g g^{-1} dry gel) for water incorporated polymer gel packings

Polymer gel	w_{int}	w_n	w_s
Bio-Gel P-2	0.60 ± 0.01	0.64 ± 0.01	1.13 ± 0.05
P-4	1.15 ± 0.03	0.52 ± 0.06	1.67 ± 0.46
Sephadex G-10	0.49 ± 0.02	0.43 ± 0.01	0.83 ± 0.07
G-15	0.71 ± 0.01	0.47 ± 0.02	1.05 ± 0.03
Toyopearl HW-40S	0.61 ± 0.01	0.40 ± 0.02	1.02 ± 0.06
HW-50S	0.61 ± 0.02	0.40 ± 0.03	1.06 ± 0.07
HW-55S	0.56 ± 0.01	0.37 ± 0.00	0.96 ± 0.06
HW-75S	0.07 ± 0.02	0.31 ± 0.10	0.30 ± 0.05
TSKgel Ether-250	0.59 ± 0.05	0.44 ± 0.05	0.49 ± 0.02
TSKgel Styrene-60		0.13 ± 0.05	0.05 ± 0.05
Styrene-250		0.15 ± 0.07	-0.04 ± 0.03

い。この相違は、疎水性の PS-DVB ゲルでは水との相互作用が非常に小さいのに対して、水酸基などの親水基をもつ高分子ゲルでは凍結・融解過程を経てもその形状を維持していることが原因であろうと推測される。

3・3 固定相として機能する不凍水と中間水の識別

3・1 で述べたように、著者らが開発した移動相体積測定法により、間接的に固定相として機能する水の量を求めることができる。そこで次式により、カラム内固定相体積 V_s を乾燥ゲル 1 g 当たりの固定相重量 w_s に換算して不凍水と中間水の量との比較を行った^{45)~48)}。

$$w_s = \rho V_s / W_g(c) \quad (14)$$

その結果を Table 3 に示す。TSKgel Ether-250 と Toyopearl HW-75S では、 w_s と w_n の値がほぼ等しいことが分かる。この結果は、これらの充填剤では不凍水のみが固定相として機能していることを示しており、不凍水のみが分離に寄与し、中間水は溶質に対する親和性（溶解性）が自由水と本質的に変わらないとする Higuchi らを含む多くの研究者の推定と一致している。しかしこれに対して、Toyopearl HW-40S, 50S, 55S, Bio-Gel P-2, P-4, そして Sephadex G-10, G-15 はいずれも w_s 値と $w_n + w_{\text{int}}$ の値が一致している。このことは、これらの充填剤では不凍水のみならず中間水も固定相として機能していることを意味している。このように、多くの親水性高分子ゲルでは不凍水と中間水が共に分離媒体として機能するが、一部のゲルでは中間水が固定相として機能していないことが明らかになった。この結果は、中間水が高分子ゲルマトリックスあるいはその構造によって分離機能水になる場合とない場合があることを示している。

一方、TSKgel Styrene-60 と 250 では固定相として機能する水相がほとんど存在しておらず、それに対応して不凍水量もわずかであることが分かる。3・2 で述べたように、

再現性が得られないため TSKgel Styrene-250 の w_{int} 値を Table 3 に示していないが、Table 1 に示したように、カラム内の TSKgel Styrene-250 は相当量の水を細孔内に含んでおり ($V_t - V_0$)、しかもそのうちのかなりの割合を中間水が占めている。すなわち、溶質に対する親和性という点では、PS-DVB ゲル内の中間水は自由水と同じであった。Ishikiryama ら²⁵⁾ は DSC を用いてポリメチルメタクリレートゲルの熱容量を測定し、凍結結合水の融解温度は自由水よりも低温であるが、運動性はほとんど変わらないことを明らかにした。彼らは、凍結結合水の融解温度の低下は高分子マトリックスと水分子の相互作用ではなく、微小の細孔内に水が閉じ込められることによる界面張力のためであると結論づけた。これと同様に Murase ら²⁴⁾ も、高分子ゲル中の区画水という考え方を提案し、ゲルの網目による水の区画化のために相転移温度の低下が起こると説明した。彼らの用いた高分子ゲルは親水性のものであり、必ずしも本研究の結果とは一致していない。しかし、DSC と HPLC によって得られた TSKgel Styrene-250 の実験結果は、この充填剤中の水は自由水よりも融点が低いが、ゲルマトリックスとの相互作用によって強く拘束されているものではないことを示している。また、TSKgel Styrene-250 の細孔中の水は固定相として機能していない。以上のことから、TSKgel Styrene-250 中の細孔中の水の融点の低下は細孔中の水相が孤立あるいは区画化されていることに起因するものであろうと考えられる。

3・4 ゲル充填剤の溶質保持選択性と水の状態

溶質分子の保持選択性とゲル内の水の状態との関係を明らかにするために、各種ゲル充填剤について幾つかの低分子有機化合物の保持挙動を検討した^{46)~48)}。保持パラメータとしては、TSKgel Styrene-60 及び 250 カラムについては保持係数 k を用い、その他のカラムについては分配係数 K_D を用いた。 k と K_D はそれぞれ次式で与えられる。

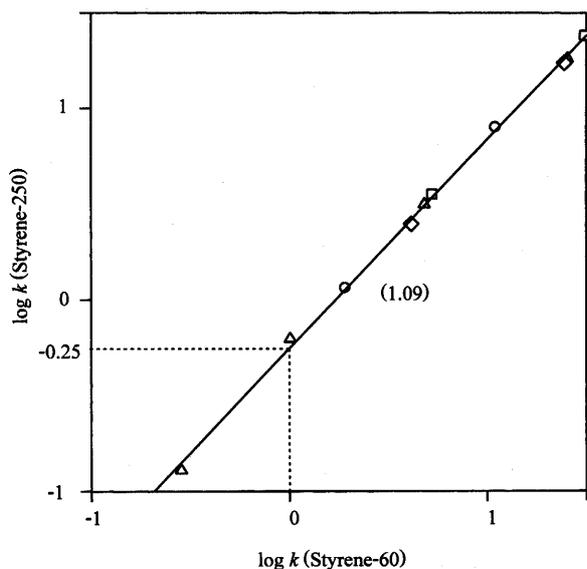


Fig. 8 Values of $\log k$ for TSKgel Styrene-250 plotted against $\log k$ for Styrene-60

Value in parentheses gives the slope of the plots. Symbols: \triangle , methanol, ethanol, 1-propanol, and 1-butanol; \square , acetone and 2-butanone; \circ , acetonitrile and phenylacetonitrile; \diamond , nitro-methane, nitroethane, and nitropropane. [Reprinted from *J. Chromatogr. A*, **1010**, 177 (2003), T. Baba, M. Shibukawa, T. Heya, S. Abe, K. Oguma, "Liquid Chromatography and Differential Scanning Calorimetry Studies on the States of Water in Polystyrene-Divinylbenzene Copolymer Gels", Copyright (2003), with permission from Elsevier]

$$k = (V_R - V_m) / V_m \quad (14)$$

$$K_D = (V_R - V_m) / V_s \quad (15)$$

ここで、 V_R は溶質の保持体積である。後述するように、高分子ゲル中の固定相は高分子と水の混合溶液相と見なすことができる系が存在するが、固定相として機能する高分子マトリックスの体積を見積もることは困難なので、式(15)においては固定相として機能する水を固定相として K_D を計算した。また、TSKgel Styrene-60と250では固定相水が存在しなかったため、保持係数を用いた。

まず、 $\log k$ 又は $\log K_D$ を同種充填剤間で比較し、溶質保持選択性を検討した。Fig. 8は、TSKgel Styrene-60カラムで得られた $\log k$ に対してStyrene-250での $\log k$ を同一の溶質についてプロットしたものである。すべての溶質についてのプロットが同一直線上に乗り、しかもその直線の傾きは1.09で、ほぼ1と見なせる値が得られた。この結果は、TSKgel Styrene-60とStyrene-250における保持機構は同一であり、溶質保持選択性に差がないことを示している。3・1から3・3で述べた結果から、TSKgel Styrene-60及び250を充填したカラム内には固定相として機能する水が存在しないことが明らかである。したがって、これら

の充填剤では、高分子表面と溶質との直接の相互作用(吸着)によって保持が起こっているものと考えられる。したがって、保持係数は吸着の分配係数 K_{ads} とカラム内の充填剤の全表面積 A を用いて次式のように与えられる。

$$k = K_{ads}A / V_m \quad (16)$$

上述のように、TSKgel Styrene-60とStyrene-250では K_{ads} が等しいと考えられるので、同一の溶質についてのそれぞれの保持係数 $k_{Styrene-60}$ と $k_{Styrene-250}$ の間には以下の関係式が成り立つことになる。

$$\begin{aligned} \log k_{Styrene-250} &= \log k_{Styrene-60} \\ &+ \log(V_{m, Styrene-60} / V_{m, Styrene-250}) \\ &+ \log(A_{Styrene-250} / A_{Styrene-60}) \end{aligned} \quad (17)$$

ここで、Fig. 8から切片は-0.25、また $\log(V_{m, Styrene-60} / V_{m, Styrene-250})$ はTable 1から-0.29と求められる。これらの値から、TSKgel Styrene-60よりもStyrene-250がわずかに(1.1倍)全表面積が大きいことが分かる。また、カラム内に充填されたStyrene-60及びStyrene-250を取り出してその乾燥重量を測定したところ、それぞれ1.235gと0.780gであった。この結果は、Styrene-250がStyrene-60の1.7倍の比表面積を有していることを示している。これはStyrene-60がカラム内でほぼ完全に収縮しており、すべての細孔はつぶれているためであろう。これらの結果も、TSKgel Styrene-60とStyrene-250のカラム内の水は溶質との親和性という点でバルク自由水と同一視できることを示している。

Fig. 9は、Toyopearl HW-40Sに対する50S、55S及び75Sにおける $\log K_D$ のプロットを示したものである。Toyopearl HW-50Sと55Sについてのプロットはいずれも原点を通る非常に良好な1本の直線上に乗っていることが分かる。特にToyopearl HW-40Sに対するToyopearl HW-50Sと55Sのプロットは傾きがそれぞれ1.03と1.11であり、これら3種の充填剤の溶質保持選択性はほぼ同じであることを示している。一方、Sephadex G-10に対するG-15及びBio-Gel P-2に対するP-4のプロットも、同様に原点を通る直線となったが、直線の傾きはそれぞれ0.73と0.74であった。これは、Sephadex G-10に比べてG-15が、またBio-Gel P-2よりもP-4が、それぞれ溶質間の分配係数の差が小さい、すなわち分離選択性が小さいことを示している。Table 3に示したように、 w_s 値を比較するとToyopearl HW-40S、50S、55Sについてはほぼ等しい値であるのに対し、Sephadex G-10の w_s 値はG-15より小さく、またBio-Gel P-2の w_s 値はP-4の w_s 値よりも小さい。このことは固定相水量が小さい充填剤ほど溶質保持選

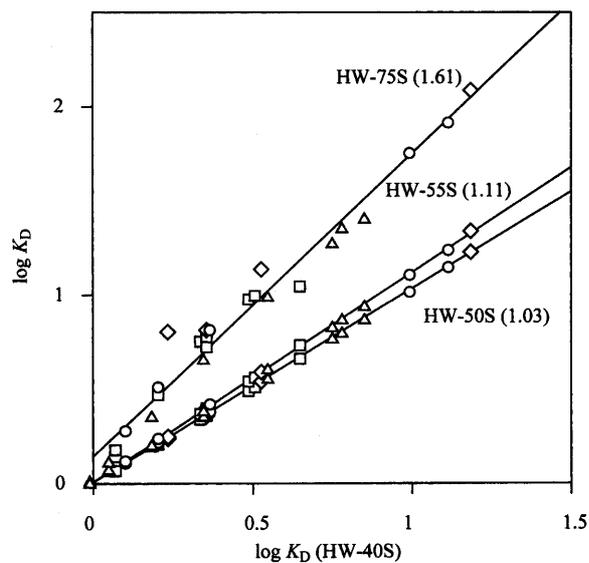


Fig. 9 Values of $\log K_D$ for Toyopearl HW-50S, HW-55S and HW-75S plotted against $\log K_D$ for Toyopearl HW-40S

Values in parentheses give the slopes of the plots. Symbols: \triangle , methanol, ethanol, 1-propanol, 1-butanol, 1-hexanol, benzyl alcohol and phenethyl alcohol; \square , acetone, 2-butanone, 3-methyl-2-butanone, 3,3-dimethyl-2-butanone, 2-pentanone, 4-methyl-2-pentanone, 3-pentanone and 2,4-dimethyl-3-pentanone; \circ , acetonitrile, propionitrile, butyronitrile, benzonitrile and phenylacetonitrile; \diamond , nitro-methane, nitroethane, nitropropane and nitrobenzene. [Reprinted from *J. Chromatogr. A*, **1040**, 45 (2004), T. Baba, R. Sakamoto, M. Shibukawa, K. Oguma, "Solute Retention and the States of Water in Polyethylene glycol and Poly(vinyl alcohol) Gels", Copyright (2004), with permission from Elsevier]

択性が大きいことを示している。

水溶性高分子と無機電解質及び水とから構成される水性二相抽出系においては、形成した二水相間の高分子濃度(重量百分率)の差、 $\Delta c_{\text{polymer}}$ が溶質の $\log K_D$ と比例関係にあることが知られている^{50)~52)}。

$$\log K_D = a \Delta c_{\text{polymer}} \quad (18)$$

ここで、 a は高分子、無機電解質及び溶質の種類に依存する比例定数である。上記の親水性高分子ゲル充填剤の固定相が高分子マトリックスと分離機能水との混合溶液と見なせるものと仮定すると、高分子濃度は $1/(1+w_s)$ で与えられる。Fig. 9 に示したプロットの傾きはそれぞれのカラムで得られた $\log K_D$ の比を表すので、その値は $1/(1+w_s)$ の比に等しくなると期待される。得られたそれぞれの充填剤の組み合わせについてのプロットの傾きと $1/(1+w_s)$ の比を比較して Table 4 に示した。若干の違いはあるが、両者の値は比較的よく一致していることが分かる。この結

Table 4 Comparison of the slope of the $\log K_D$ vs. $\log K_D$ plot with the ratio of $1/(1+w_s)$ for each pair of the polymer gel packings

	Slope	Ratio of $1/(1+w_s)$
Sephadex G-15 vs. G-10	0.73	0.89
Bio-Gel P-4 vs. P-2	0.74	0.80
Toyopearl HW-50S vs. HW-40S	1.03	0.98
Toyopearl HW-55S vs. HW-40S	1.11	1.03
Toyopearl HW-75S vs. HW-40S	1.61	1.55

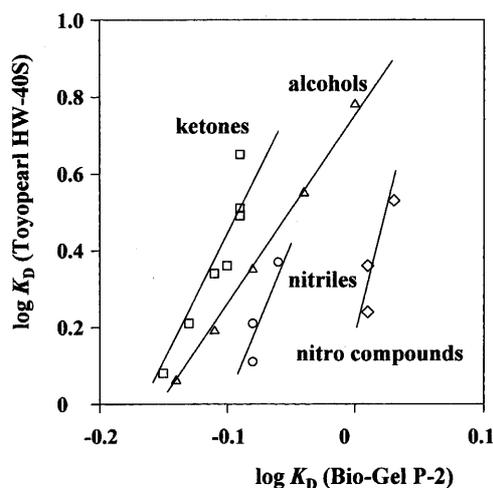


Fig. 10 Values of $\log K_D$ for Toyopearl HW-40S plotted against $\log K_D$ for Bio-Gel P-2

See Fig. 9 for details.

果は、第一近似として、これらのゲル充填剤の固定相は高分子と水の混合溶液相と見なせることを示している。常温では混合溶液相中の高分子鎖はランダムに分散し、均一相と見なすことができるが、含水高分子ゲルの凍結あるいは融解の過程において高分子鎖の親水基と強く結合した水は不凍水として、また他の水は中間水として観測されるものと推測される。

一方、Fig. 9 から分かるように、Toyopearl HW-75S vs. HW-40S のプロットは、そのばらつきが他の 2 つのプロットに比べて大きい。2 種の異なる充填剤の $\log K_D$ どうしのプロットをとったとき、1 本の直線関係を示すのは同種の充填剤の組み合わせについてのみである。一例として、Bio-Gel P-2 に対する Toyopearl HW-40S のプロットを Fig. 10 に示す。このことは、Toyopearl HW-75S が同じ PVA を基材とした充填剤でありながら HW-40S などとは異なる構造を持っていることを示唆している。

PVA は、水酸基を介して分子内あるいは分子間水素結合を形成することが知られている^{53)~55)}。Takigawa ら⁵⁵⁾ は、メタノールなどの有機溶媒中で PVA ゲルを調製すると、

PVA凝集領域と溶媒に富む領域の2相が形成されることを見いだした。形成した2相は溶媒を蒸発除去させ398 Kでアニーリングすることによって固定化され、これを水中に入れたら、水素結合で凝集したPVAの微晶領域と水を含んだマクロ孔が形成される。このことから、Toyopearl HW-40S, 50S, 55Sは比較的均一な架橋点を持つゲル相を形成しているのに対し、HW-75SはPVAが凝集した微晶領域と、それによって区画化されたマクロ孔内に水相を含む不均一な構造を形成しているものと推測される。

Table 3に示したように、Toyopearl HW-75Sでは、HW-40S, 50S, 55Sと異なり、中間水が固定相として機能していない。そこで、Toyopearl HW-75Sと同様に中間水が固定相になっていないTSKgel Ether-250との $\log K_D$ の

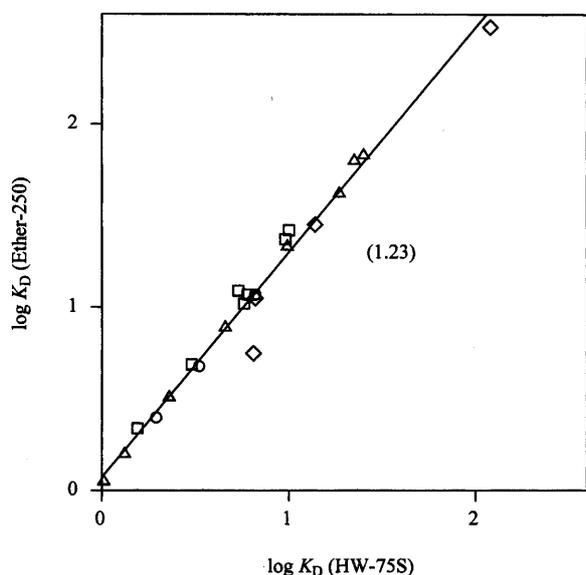


Fig. 11 Values of $\log K_D$ for TSKgel Ether-250 plotted against $\log K_D$ for Toyopearl HW-75S

See Fig. 9 for details. [Reprinted from *J. Chromatogr. A*, **1040**, 45 (2004), T. Baba, R. Sakamoto, M. Shibukawa, K. Oguma, "Solute Retention and the States of Water in Polyethylene glycol and Poly(vinyl alcohol) Gels", Copyright (2004), with permission from Elsevier]

プロットをとって見た。その結果をFig. 11に示す。非常に興味深いことに、PVAとPEGという異種の基材高分子でありながら、ほとんどのプロットが1本の直線に乗っている。PEGも水溶液中で水分子を橋架けにして安定な高次構造をとることが知られている^{56)~58)}。Grahamら⁵⁶⁾はPEGゲルと水の結合状態を研究し、エーテル酸素1つに対して水分子3つが水和した構造を形成することを報告した。彼らは、水で膨潤したPEGゲルの構造は7つのエチレンオキシドの繰り返しによってヘリックス構造が形成されると予想した。これらの研究結果から、TSKgel Ether-250の構造はToyopearl HW-75Sと同様に、PEGと水分子が強く結合して形成した領域と、それによって作り出された $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ の疎水的的外殻を持つ細孔から成っているものと推測される。細孔内に存在する水相は中間水として観測されるが、PS-DVBゲルの場合と同様に固定相としては機能しないものと考えられる。

Toyopearl HWシリーズは水系サイズ排除クロマトグラフィ用充填剤として市販されているが、HW-75Sの排除限界分子量は最も大きく、数百万に達している (Table 5)。これに対して、TSKgel Ether-250の細孔径は25 nmであるから、排除限界分子量に換算すると1万程度と推定される⁹⁾。Toyopearl HW-75Sの w_{int} 値がTSKgel Ether-250に比べて非常に小さく、また中間水の融解温度が高いのは、サイズの大きなマクロ孔が形成されており、融点降下が小さいためであろう。

4 ま と め

LC用カラム充填剤として市販されている含水高分子ゲル中の水の状態を、ゲルの持つ溶質分離選択性との関係に着目してLCとDSCにより検討を行った。ゲル充填剤に取り込まれた水は、DSC測定の結果、不凍水、中間水、自由水の3つの状態に分類された。一方、LCカラム内の移動相体積測定法により固定相として機能する水の量を求め、これらの状態の異なる水の量と比較したところ、親水性ゲル (DEX, PAA, PVA, PEG) は、不凍水と中間水が共に固定相として機能しているものと不凍水のみが固定相

Table 5 Some physical properties of Toyopearl HW-40S, 50S, 55 S, 75S and TSKgel Ether-250 gel beads^{a)}

Polymer gel beads	Particle size/ μm	Exclusion limits/ MW	Pore diameter/ nm
Toyopearl HW-40S	10 - 40	2.10×10^3 - 3.90×10^3	
HW-50S	20 - 40	1.26×10^4 - 2.34×10^4	
HW-55S	20 - 40	1.05×10^5 - 1.95×10^5	
HW-75S	20 - 40	5.00×10^6 - 11.5×10^6	
TSKgel Ether-250	5	—	25

a) Manufacturer's data. [Reprinted from *J. Chromatogr. A*, **1040**, 45 (2004), T. Baba, R. Sakamoto, M. Shibukawa, K. Oguma, "Solute Retention and the States of Water in Polyethylene glycol and Poly(vinyl alcohol) Gels", Copyright (2004), with permission from Elsevier]

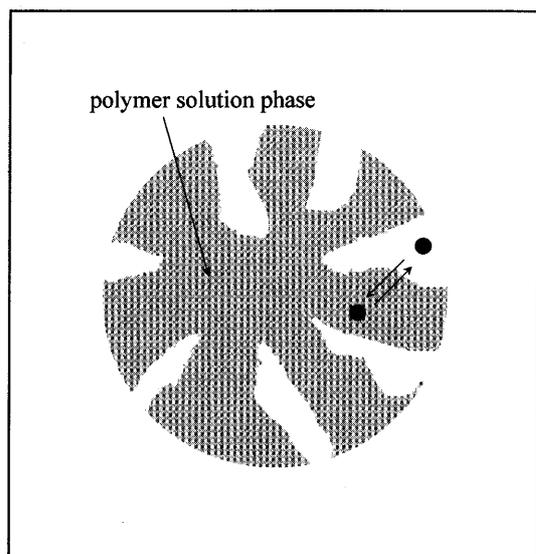


Fig. 12 Schematic representation of a partition model in water-swollen hydrophilic polymer gels

として機能しているものの2つに大別できることが明らかになった。基本的にこれらのゲルの固定相は高分子マトリックスと水との混合溶液と見なすことができ、固定相における高分子濃度が高いほど溶質間の分配係数の差、すなわち分離選択性が大きいことが明らかになった。一般に疎水性の溶質ほど保持が大きい、異種高分子からなる充填剤どうしを比較すると官能基によって分配係数に差が生じる。すなわちこれらの充填剤を用いた系の保持機構は、基本的に Fig. 1 (c) のモデルで表現できる。しかし、ゲル粒子内部には移動相領域も存在していることから、Fig. 12 のような構造であろうと推測される。

これに対して、疎水性ゲル (PS-DVB) では固定相として機能する水が存在せず、高分子表面への吸着によって溶質の保持が起こっていることが示唆された。これは、Fig. 1 (a) のモデルが該当する。PS-DVB ゲルにおいて観測された中間水は、高分子マトリックスとの相互作用によって生じたものではなく、細孔内に水相が孤立あるいは区画化されたことによる融点降下に起因するものであると推測した。Toyopearl HW-75S 及び TSKgel Ether-250 試料中の中間水も、PS-DVB と同様に固定相としての機能を持たないことから、同様の原因によって生じたものであると考えられる。溶質保持選択性の比較などから、これらの充填剤は Sephadex G-10 などのランダム架橋構造ではなく、マクロポーラス構造を有していることが示唆された。

水は輸送・分離媒体として多種多様な分離系を構成しており、媒体内での水の構造あるいは状態は当該分離系のもつ分離選択性と密接な関係がある。溶質分子をプローブとする分析法である LC に、DSC や他の分光分析法を併せて

系統的な研究を進めることにより、含水高分子ゲルの構造と分子間相互作用すなわち分離選択性との関係が明らかになるものと期待される。

文 献

- 1) Y. Taniguchi, S. Horigome: *J. Appl. Polym. Sci.*, **19**, 2743 (1975).
- 2) Y. Taniguchi, S. Horigome: *Desalination*, **16**, 395 (1975).
- 3) S. Horigome, Y. Taniguchi: *J. Appl. Polym. Sci.*, **21**, 343 (1977).
- 4) S. Wisniewski, S. W. Kim: *J. Membr. Sci.*, **6**, 299 (1980).
- 5) A. Higuchi, T. Iijima: *Polymer*, **26**, 1833 (1985).
- 6) A. Higuchi, T. Iijima: *J. Appl. Polym. Sci.*, **32**, 3229 (1986).
- 7) J. Porath, P. Flodin: *Nature*, **183**, 1657 (1959).
- 8) R. P. Bywater, N. V. B. Marsden: "Gel Chromatography", E. Heftmann (Ed.): "Chromatography, Part. A Fundamentals and Techniques", (1983), (Elsevier Sci. Pub., Amsterdam).
- 9) 武内次夫, 森 定雄: "ゲルクロマトグラフィー基礎編", (1972), (講談社).
- 10) A. Heyraud, M. Rinaudo: *J. Chromatogr.*, **166**, 149 (1978).
- 11) W. Heitz: *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.*, **77**, 210 (1973).
- 12) W. Heitz: *Z. Anal. Chem.*, **277**, 323 (1975).
- 13) K. Saitoh, N. Suzuki: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, 116 (1978).
- 14) M. Yamamoto, Y. Yamamoto: *Anal. Chim. Acta*, **87**, 375 (1976).
- 15) A. Higuchi, M. Abe, J. Komiyama, T. Iijima: *J. Membr. Sci.*, **21**, 113 (1984).
- 16) A. Higuchi, H. Fushimi, T. Iijima: *J. Membr. Sci.*, **25**, 171 (1985).
- 17) H. Yoshida, Y. Miura: *J. Membr. Sci.*, **68**, 1 (1992).
- 18) Y. Hirata, Y. Miura, T. Nakagawa: *J. Membr. Sci.*, **163**, 357 (1999).
- 19) K. Nakamura, T. Hatakeyama, H. Hatakeyama: *Polymer*, **24**, 871 (1983).
- 20) H. Hatakeyama, T. Hatakeyama: *Thermochim. Acta*, **308**, 3 (1998).
- 21) K. Hofmann, H. Hatakeyama: *Macromol. Chem. Phys.*, **196**, 99 (1995).
- 22) T. Hatakeyama, H. Hatakeyama, K. Nakamura: *Thermochim. Acta*, **253**, 137 (1995).
- 23) A. Higuchi, T. Iijima: *Polymer*, **26**, 1207 (1985).
- 24) N. Murase, K. Gonda, T. Watanabe: *J. Phys. Chem.*, **90**, 5420 (1986).
- 25) K. Ishikiriyama, M. Todoki: *J. Polym. Sci. B. Polym. Phys.*, **33**, 791 (1995).
- 26) C. A. F. K. Fung, M. F. Burke: *J. Chromatogr. A*, **752**, 41 (1996).
- 27) K. Y. Lee, W. S. Ha: *Polymer*, **40**, 4131 (1999).
- 28) Y. Suetoh, M. Shibayama: *Polymer*, **41**, 505 (2000).
- 29) Z. H. Ping, Q. T. Nguyen, S. M. Chen, J. Q. Zhou, Y. D. Ding: *Polymer*, **42**, 8461 (2001).
- 30) M. Carezza, G. Cozzani, B. Bracci, L. Lendinara, L. Vitali, M. Zinani, M. Yoshida, R. Katakai, E. Takacs, O. Z. Higa, F. Martellini: *Radiat. Phys. Chem.*, **55**, 209 (1999).
- 31) W. G. Liu, K. D. Yao: *Polymer*, **42**, 3943 (2001).
- 32) R. M. Hodge, G. H. Edward, G. P. Simon: *Polymer*,

- 37, 1371 (1996).
- 33) D. Capitani, V. Crescenzi, A. A. De Angelis, A. L. Segre: *Macromolecules*, **34**, 4136 (2001).
- 34) H. Kitano, K. Ichikawa, M. Ide, M. Fukuda, W. Mizuno: *Langmuir*, **17**, 1889 (2001).
- 35) Y. Maeda, N. Tsukida, H. Kitano, T. Terada, J. Yamanaka: *J. Phys. Chem.*, **97**, 13903 (1993).
- 36) T. Terada, Y. Maeda, H. Kitano: *J. Phys. Chem.*, **97**, 3619 (1993).
- 37) H. Yui, Y. Yoneda, T. Kitamori, T. Sawada: *Phys. Rev. Lett.*, **82**, 4110 (1999).
- 38) Y. Tamai, H. Tanaka, K. Nakanishi: *Macromolecules*, **29**, 6750 (1996).
- 39) Y. Tamai, H. Tanaka, K. Nakanishi: *Macromolecules*, **29**, 6761 (1996).
- 40) N. Shinyashiki, S. Yagihara, I. Arita, S. Mashimo: *J. Phys. Chem. B*, **102**, 3249 (1998).
- 41) T. Hatakeyama, F. X. Quinn: "Thermal Analysis: Fundamentals and Applications to Polymer Science", p. 98 (1994), (Wiley, Chichester).
- 42) M. Shibukawa, N. Ohta, R. Kuroda: *Anal. Chem.*, **53**, 1620 (1981).
- 43) M. Shibukawa, N. Ohta: *Chromatographia*, **22**, 261 (1986).
- 44) M. Shibukawa, N. Ohta: *Chromatographia*, **25**, 228 (1988).
- 45) M. Shibukawa, N. Ohta, N. Onda: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **63**, 3490 (1990).
- 46) M. Shibukawa, K. Aoyagi, R. Sakamoto, K. Oguma: *J. Chromatogr. A*, **832**, 17 (1999).
- 47) T. Baba, M. Shibukawa, T. Heya, S. Abe, K. Oguma: *J. Chromatogr. A*, **1010**, 177 (2003).
- 48) T. Baba, R. Sakamoto, M. Shibukawa, K. Oguma: *J. Chromatogr. A*, **1040**, 45 (2004).
- 49) N. V. B. Marsden: *J. Chromatogr.*, **58**, 304 (1971).
- 50) B. Yu. Zaslavsky, L. M. Miheeva, G. Z. Gasanova, A. U. Mahmudov: *J. Chromatogr.*, **392**, 95 (1987).
- 51) B. Y. Spivakov, T. I. Nifant'eva, V. M. Shikinev: R. D. Rogers, M. A. Eiteman (Ed.) "Aqueous Biphasic Separations: Biomolecules to Metal Ions", p. 83 (1995), (Plenum Press, New York).
- 52) M. Shibukawa, K. Matsuura, Y. Shinozuka, S. Mizuno, K. Oguma: *Anal. Sci.*, **16**, 1039 (2000).
- 53) M. Kobayashi, I. Ando, T. Ishii, S. Amiya: *J. Mol. Struct.*, **440**, 155 (1998).
- 54) Y. Machida, S. Kuroki, M. Kanekiyo, M. Kobayashi, I. Ando, S. Amiya: *J. Mol. Struct.*, **554**, 81 (2000).
- 55) T. Takigawa, H. Kashihara, K. Urayama, T. Masuda: *Polymer*, **33**, 2334 (1992).
- 56) N. B. Graham, M. Zulficar, N. E. Nwachuku, A. Rashid: *Polymer*, **31**, 909 (1990).
- 57) H. Kitano, K. Sudo, K. Ichikawa, M. Ide, K. Ishihara: *J. Phys. Chem. B*, **104**, 11425 (2000).
- 58) V. S. Marinov, H. Matsuura: *J. Mol. Struct.*, **610**, 105 (2002).

要 旨

液体クロマトグラフィー (LC) 用カラム充填剤として市販されている種々の親水性及び疎水性高分子ゲルを対象とし、ゲルに取り込まれた水の状態を、ゲルの持つ溶質分離選択性との関係に着目して LC と示差走査熱量測定法 (DSC) により検討した。DSC 測定の結果、ゲル中の水は不凍水、中間水、自由水の 3 つの状態に識別された。一方、独自に開発した LC 移動相体積測定法により、ゲル中で固定相として機能する水、すなわち分離媒体として機能する水の量を求め、これらの状態の異なる水の量と比較したところ、親水性ゲルは不凍水と中間水が共に固定相として機能しているものと不凍水のみが固定相として機能しているものの 2 つに大別できることが明らかになった。これに対して、疎水性ゲル (ポリスチレン-ジビニルベンゼン共重合体ゲル) では固定相として機能する水が存在しないことが分かった。種々の有機化合物をプローブとしてそれぞれの LC 系の分離選択性を調べ、ゲル内の水の状態とゲルの構造とを考察した。