

卵殻を母体とした クロマトグラフィー

飛翔する
若手研究者

蛭田勇樹

慶應義塾大学理工学部応用化学科 准教授

卵殻は家庭・産業廃棄物として毎年 20 万トン以上が廃棄されている。化学的な性質に着目すると、95% は炭酸カルシウムからなり、多孔性構造を持ちアルカリ耐性が高い。本稿では、卵殻の特性を有効に活用した高アルカリ耐性カラム充填剤の開発と分取・分析カラムへの応用について紹介する。

はじめに

クロマトグラフィーの充填剤といえば、化学を学んできた研究者のほとんどはシリカゲルを思い浮かべるであろう。順相クロマトグラフィーには、未修飾の多孔性シリカゲル、逆相クロマトグラフィーには、オクタデシルシリル基が修飾されたシリカゲルをパッキングしたカラムが主に使われている。高速液体クロマトグラフィー (HPLC) には、3~5 μm 程度のサイズが均一な球状多孔性シリカゲルが用いられており、高い分離性能を持つ。筆者自身、多孔性シリカゲルの表面をポリ (*N*-イソプロピルアクリルアミド) で修飾した温度応答性クロマトグラフィーの研究をしていたが¹⁾、偶然、炭酸カルシウムを母体とする充填剤を開発することになった。当時、慶應義塾大学薬学部に所属していた筆者は、理工学部に装置を借りに廊下を歩いていると、掲示してあるポスターに均一な多孔性粒子の走査型電子顕微鏡 (SEM) 像を見つけた (図 1)。これは HPLC の充填剤に使えるかと興味を持って調べてみるとバイオミネラリゼーションを模倣することで得られる多孔性炭酸カルシウム粒子であった。炭酸カルシウムは安価で安全性が高く、シリカゲルが溶解してしまうアルカリ性溶液中で高い安定性を示すことから、シリカゲル系カラムが苦手とするアルカリ性移動相による分離精製に応用できると考えた。また、クロ

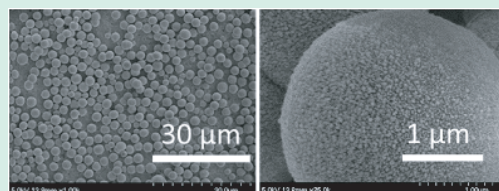


図 1 多孔性炭酸カルシウム粒子の SEM 像

マトグラフィーの歴史は、植物学者のミハイル・ツヴェットがチョーク (炭酸カルシウム) を用いて植物の葉由来の色素を分離したことから始まっており、そうした歴史を築いた材料に立ち返ることも興味深いと考え、本研究を開始した。

多孔性炭酸カルシウム粒子を母体とした 逆相クロマトグラフィー

シリカ系の充填剤では、有機置換基をシランカップリング剤を用いて共有結合により導入することが可能であるが、炭酸カルシウムでは共有結合による修飾はできない。まず、炭酸カルシウム表面で高分子を重合することを考えた。架橋剤を含めて重合すれば、3 次元的な網目構造を形成することで、物理的に炭酸カルシウム表面に修飾できると予想した。しかし、修飾する高分子の量を制御することが難しく、カラムを作っても、テーリングがひどく、鋭いピークは得られなかった。そこで、長時間の安定使用には至らなくても、まずは数回でも分離が可能であればよいという考えの下、炭酸カルシウムへの静電吸着による修飾を考えた。両親媒性高分子であるポリマ

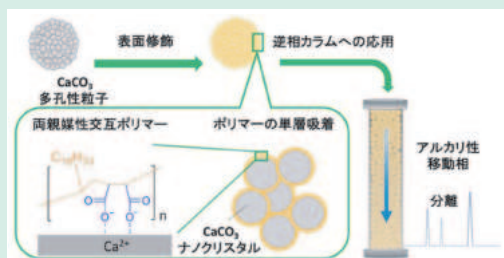


図2 多孔性炭酸カルシウム粒子へのPMAcOの修飾と充填剤への応用

Adapted from Ref. 2 with permission from The Royal Society of Chemistry.

レイン酸オクタデセン交互ポリマー (Poly Maleic Acid-*alt*-1-Octadecene : PMAcO) を用いて、カルボキシ基の負電荷と Ca^{2+} の正電荷の静電吸着による修飾によって、粒子の多孔性を維持した薄く均一な単層修飾を可能とした²⁾(図2)。カラムを作製し、ナフタレンやアルキルベンゼンを用いて、その基礎特性を評価したところ、高分子を粒子表面で重合した充填剤とは大きく異なり、シャープなピークを持つクロマトグラムが得られた。さらに予想に反して、移動相を連続的に流して繰り返し分析を行っても、カラム性能の劣化は見られなかった。これはポリマーに多数存在するカルボキシ基の Ca^{2+} への吸着により、耐久性の高い修飾を可能としたためと考えられる。最適化をしていくと、市販のオクタデシルシリル (ODS) カラムに匹敵するレベルにまで分離能を高めることもできた³⁾。

卵殻を母体とした分取・分析カラムの開発

バイオミネラルを模倣した炭酸カルシウム粒子に続いて、バイオミネラルである卵殻の粉末を分取カラムの充填剤に応用した。卵殻は食品廃棄物であるため、安価かつ大量に入手可能であり、SDGsにも貢献できると考えた。また、炭酸カルシウム結晶と生体高分子が階層的に積層した構造を持っており、生体高分子を除去すれば、その多孔性を充填剤に有効活用できる。炭酸カルシウム粒子と同様にPMAcO修飾することで、逆相カラム充填剤として、天然物合成におけるジASTEレオマー、医薬品中間体、医薬品の精製に応用した^{4,5)}。

卵殻粉末は破碎された不均一なサイズの粒子を用いているため、分離能が高くなく

でも利用が可能な分取カラムに応用していたが、さらに分離能を高めることで分析カラムへの応用を目指した。粒子サイズによって沈降速度に違いがあることを利用する沈降分離によって、微細な卵殻粉末を除去することで、粒子サイズの均一性を改善した。この卵殻粉末にPMAcOを修飾して、逆相カラムとすると、分離能の向上が確認された。血中治療薬物モニタリングが必要な抗菌薬のポリコナゾール、分子標的治療薬であるイマチニブをブタ全血にスパイクし、それぞれの薬物の無効域、有効域、中毒域となる濃度のサンプルを分析したところ、100%に近い回収率が再現性良く得られた⁶⁾。アルカリ移動相を用いた連続分析においても、70時間以上安定に使うことができた。このように、単なる食品廃棄物の再利用にとどまらず、新たな分離精製技術を開発することができた。

おわりに

以上、均一なサイズを持つ多孔性炭酸カルシウム粒子を偶然見つけたことから研究が始まった卵殻を母体とした逆相クロマトグラフィーの開発について述べた。現段階では、シリカゲルクロマトグラフィーでも可能な化合物の分取・分析にとどまっているが、卵殻の特性を活かした本技術ならではの分離技術を開発していきたい。

本研究を遂行するにあたり、ご尽力いただいた共同研究者の先生方、そして新たに立ち上げた研究テーマであり、成功するのかわからない中、ともに研究を進めてくれた学生に、この場を借りて深く感謝申し上げます。

- 1) Y. Hiruta, *Polym. J.* **2022**, 54, 1419.
- 2) M. Mochida, Y. Nagai, H. Kumagai, H. Imai, D. Citterio, Y. Hiruta, *J. Mater. Chem. B* **2019**, 7, 4771.
- 3) K. Kaizu, M. Mochida, H. Imai, D. Citterio, Y. Hiruta, *J. Chromatogr. A* **2022**, 1677, 463294.
- 4) T. Yoshii, M. Mochida, K. Kaizu, Y. Soda, K. Kanamori, K. Nakanishi, T. Sato, H. Imai, D. Citterio, Y. Hiruta, *ACS Appl. Polym. Mater.* **2022**, 4, 6949.
- 5) T. Yoshii, A. Sakama, K. Kanamori, K. Nakanishi, H. Imai, D. Citterio, Y. Hiruta, *J. Chromatogr. A* **2023**, 1688, 463722.
- 6) T. Yoshii, K. Nakano, T. Okuda, D. Citterio, Y. Hiruta, *Anal. Methods* **2023**, 15, 1790.

© 2025 The Chemical Society of Japan



ひるた・ゆうき

〔経歴〕2013年慶應義塾大学大学院理工学研究科後期博士課程修了(指導教員:鈴木孝治教授),博士(工学)。同年同大学薬学部助教,17年同大学理工学部応用化学科専任講師,23年より現職。23年9月から24年9月までカリフォルニア大学サンディエゴ校訪問研究員。〔専門〕分析化学。
E-mail: hiruta@appc.keio.ac.jp