

平成 21 年 5 月 8 日現在

研究種目：若手研究 B

研究期間：2006～2008

課題番号：18750072

研究課題名（和文） シリカナノ細孔薄膜を利用した光学異性体分離精製膜の開発

研究課題名（英文） Use of silica-surfactant nanochannels in a porous alumina membrane for separation of optical isomers

研究代表者

山下 智富（YAMASHITA TOMOHISA）

富山県衛生研究所・化学部・主任研究員

研究者番号：10416092

研究成果の概要：

液体クロマトグラフィーシステムや分析チップ内に陽極酸化アルミナ薄膜を分離カラムとして設置、ヘプタン-エタノール混合溶離液、アセトニトリル-水混合溶離液および水溶離液を用いて溶質の分離を行なった。また、陽極酸化アルミナに対する溶質分子の吸着挙動を評価した。本研究の結果、陽極酸化アルミナの細孔は液体クロマトグラフィーや分析チップ等の分離カラムとしての機能することが示された。

交付額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合 計
2006 年度	1,100,000	0	1,100,000
2007 年度	800,000	0	800,000
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総 計	2,800,000	270,000	3,070,000

研究分野：

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：陽極酸化アルミナ，チップ，クロマトグラフィー，分離，カラム

1．研究開始当初の背景

光学異性体とは互いに鏡像の関係にある物質であり、旋光性以外の物理的・化学的性質は同じである。この光学異性体は我々の生活の中で重要な役割を果たしている。医薬品や農薬、調味料、香料などは、どちらか一方の光学異性体しか効果を示さないものが多い。その場合には、製造過程において光学分割が必要となってくることがある。特に、医薬品においては、光学活性の違いによって

薬効性や毒性が異なってくることから、光学異性体の分離精製は極めて重要である。

一般的に用いられている光学分割の方法には、キラルなカラムを用いて液体クロマトグラフィーで光学分割する方法や、酵素に一方の光学異性体を選択的に認識させて光学分割する方法、一方の光学異性体を選択的に結晶化させる方法がある。しかしながら、いずれの方法も煩雑な操作や長い時間が必要なため、簡易な分離精製法の確立が強く望まれている。

分離精製を効率よく行う方法の一つとして、分離体の薄膜化が挙げられる。分離体として薄膜を用いた場合、試料を膜透過させるだけで光学分割できる。よって、光学異性体の大量分離と分離工程の簡易化が可能となり、精製時間が大幅に短縮される。近年、光学異性体分離膜を作製した研究が報告され、大きな注目を集めつつあるが、膜材料として有機素材を使用しているため、低い膜強度や溶媒による膨潤、熱による素材の変性が未解決の問題として残されている。そのため、無機素材を用いた優秀な光学異性体分離膜の登場を、多くの分野が待ち望んでいる。

2. 研究の目的

本研究では、近年、新規に創製された垂直配向型メソポーラスシリカ薄膜（シリカナノ細孔薄膜）を改質し、膜構造を形成する成分が無機素材である光学異性体分離膜を作製することを目的とする。

3. 研究の方法

シリカナノ細孔薄膜の細孔内部に光学活性なシランカップリング剤を固定化することにより光学異性体分離膜を作製、光学分割を行なう予定であった。しかし、シリカナノ細孔薄膜自体の分離特性を調べたところ、光学活性なシランカップリング剤を固定化しても、十分な光学分割能を有する膜を得られないことが推測できる結果であった。

そこで、研究方針を変更、ナノ材料を用い、液体クロマトグラフィーおよび分析チップ用のナノカラムの作製を行なうことにした。液体クロマトグラフィーシステムや分析チップ内に陽極酸化アルミナ薄膜を分離カラムとして設置、溶質を分離した。

4. 研究成果

(1)陽極酸化アルミナ薄膜の液体クロマトグラフィー用ナノカラムとしての利用

陽極酸化アルミナ膜（細孔径 100 nm、膜厚 60 μm ）をカラムとして高速液体クロマトグラフィーの装置に設置、ヘプタン-エタノール混合溶媒を移動相として溶質分子の保持時間を測定した（図 1）。溶質分子にはトルエンとフェノールを用いた。

溶離液中のエタノールモル分率が 0.025 以下では、フェノールはトルエンよりも大きな保持時間を示した。この結果は、陽極酸化アルミナ薄膜がカラムとしての機能を有していることを表している。また、カラムとして用いる陽極酸化アルミナの枚数の増加と共にトルエンとフェノールの保持時間の差は大きくなった（図 2）。この保持時間の差の増加はカラム長の増加に伴う分離度の向上によるものと考えられる。移動相組成比を変化

させて保持時間を測定したところ、エタノールモル分率が 0.025 より大きい領域においてはフェノールの保持時間が急激に減少した。（図 3）混合溶媒中において、エタノール分子はフェノール分子を選択的に溶媒和することが知られている。また、アルコール分子はアルミナ表面と相互作用することから、エタノールとフェノールはアルミナ表面との相互作用において競合する。よって、この急激な保持時間の減少の原因としては、フェノール分子に対するエタノール分子の選択的な溶媒和と、フェノール分子とアルミナ表面との相互作用の減少が考えられる。以上より、陽極酸化アルミナ薄膜が液体クロマトグラフィー用のカラムとして利用可能であることが示された。

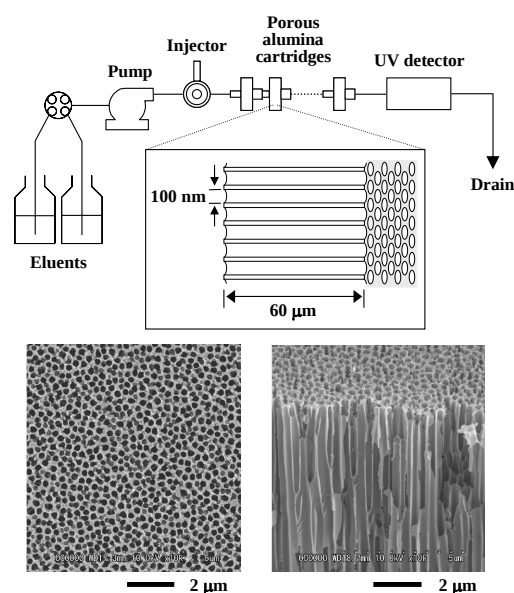


図 1 液体クロマトグラフィー測定システムと陽極酸化アルミナの電子顕微鏡写真

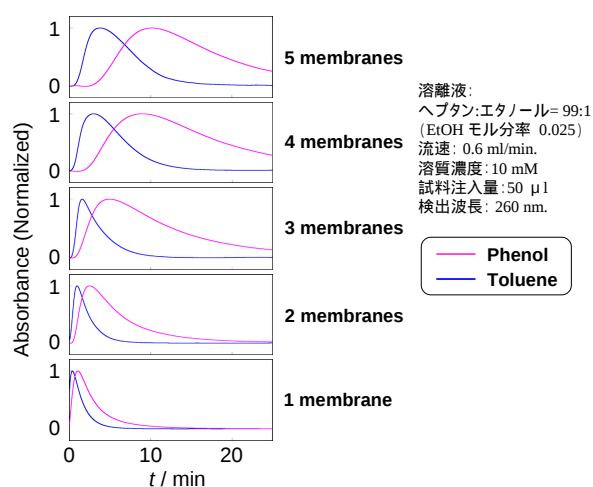


図 2 クロマトグラムの陽極酸化アルミナ薄膜枚数依存性

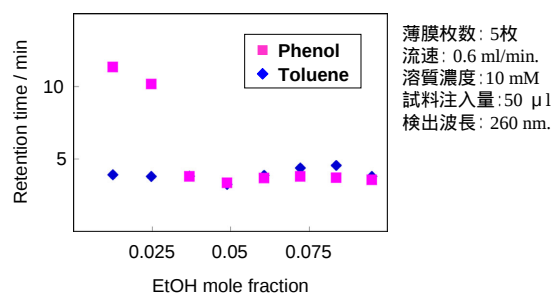


図3 保持時間のエタノールモル分率依存性

(2) 陽極酸化アルミナ薄膜の分析チップ用ナノカラムとしての利用

測定では、陽極酸化アルミナ薄膜（細孔径 100 nm、膜厚 60µm、薄膜直径 25 mm）を 5 枚重ねて分離カラムとしたチップを測定装置（ポンプ、インジェクター、検出器）に接続、溶質分子の保持時間を測定した（図 4）。

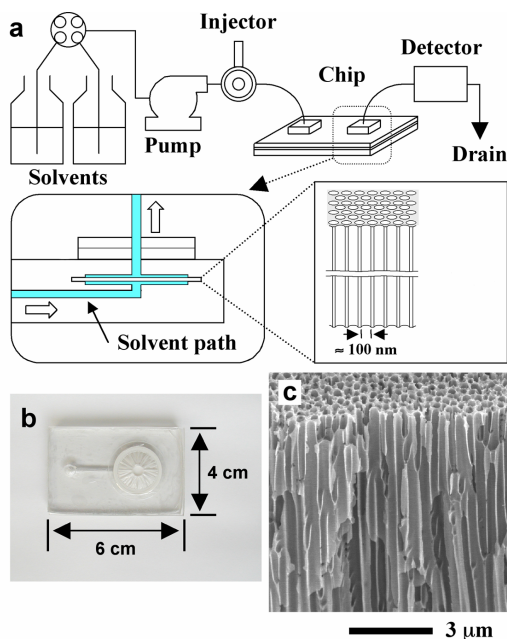


図4 測定系 (a) システムの模式図 (b) 分析チップの写真 (c) チップ内に組み込んだ陽極酸化アルミナの電子顕微鏡写真

アントラセンメタノール(AM), アントラセンカルボン酸(AC), ダンシルグリシン(DG)の混合溶液を試料, アセトニトリル-水混合溶媒を溶離液としてクロマトグラフィー測定を行なったところ, それぞれの溶質に対応するピークが現れた（図 5）。溶質分子とアルミナとの相互作用の大きさを調べるために, 吸着平衡状態におけるそれぞれの溶質のアルミナに対する吸着量を測定したところ, 吸着量の序列は, 保持時間の序列と一致した。よっ

て, 溶質分子の保持機構には吸着が大きく寄与していると考えられる。AC と DG はアルミナに吸着し, その吸着量は水の濃度の増加とともに減少した。水分子はカルボン酸やアルミナ表面と相互作用することが知られている。このことから, 水の比率が増加すると, 溶質分子に対する水分子の溶媒和の比率が増加するとともに, アルミナ表面にも多くの水分子が吸着してゆくため, 溶質のアルミナへの吸着量が減少してゆくと考えられる。一方, AM の場合には, 吸着は観測されなかった。これは, アセトニトリル中では水酸基とアルミナの相互作用は小さいためと考えられる。

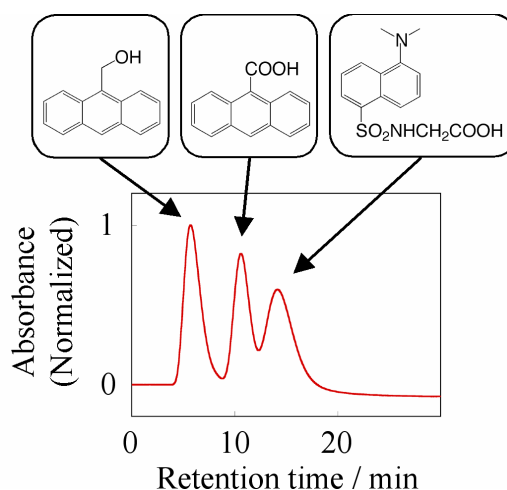


図5 アントラセンメタノール, アントラセンカルボン酸, ダンシルグリシンのクロマトグラム

本研究では, 完全水系の溶離液（炭酸ナトリウム水溶液と精製水）を用いてアデニン, AMP, ATP も分離した。

アデニン, AMP, ATP の混合溶液を試料としてクロマトグラムを行なったところ, それぞれの溶質に対応するピークが現れた（図 6）。保持時間の序列は ATP > AMP > アデニンであった。それぞれの溶質分子とアルミナとの相互作用の pH 依存性を調べるために, pH7.3 と 9.8 の条件下における吸着平衡状態でのそれぞれの溶質のアルミナに対する吸着量を測定した。アデニンでは, いずれの pH においても吸着は観測されなかった。これは, 水中ではアデニンとアルミナの相互作用が小さいためと考えられる。AMP と ATP の場合, pH7.3 ではいずれの溶質においても吸着が観測された。そして, その吸着量は pH9.8 においては pH7.3 の時よりも低下した。また, 吸着量の序列は, ATP > AMP > アデニンであった。この序列は保持時間の序列と一致している。リン酸基は, アルミナ表面と相互作用することが知られている。リン酸基の数が多いほどアルミナとの相互作用が大きくな

るため、保持時間や吸着量が大きくなると考えられる。

本研究の結果、陽極酸化アルミナ薄膜が液体クロマトグラフィーや分析チップの分離カラムに適用可能であることが示された。

本研究は陽極酸化アルミナのナノ細孔を分離カラムとして用いた初めての例である。

臨床、環境分析、研究など、簡易・迅速分析を必要とされる多くの分野に、このナノカラムを用いたチップの需要は存在すると考えられる。今後は、チップにマイクロリアクター（微小反応器）の機能を追加、分離前後においてチップ内反応を行えるようにして、生体分子等の簡易・迅速分析に適用する。

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 12 件）

Tomohisa Yamashita, Shuji Kodama, Tomoko Kemmei, Mikiya Ohto, Eriko Nakayama, Tatsuya Muramoto, Akira Yamaguchi, Norio Teramae, Nobutaka Takayanagi

“Separation of adenine, adenosine-5'-monophosphate and adenosine-5'-triphosphate by fluidic chip with nanometre-order diameter columns inside porous anodic alumina using an aqueous mobile phase”
Lab on a Chip 9, 1337-1339(2009).

Tomohisa Yamashita, Shuji Kodama, Mikiya Ohto, Eriko Nakayama, Tomoko Kemmei, Tatsuya Muramoto, Akira Yamaguchi, Norio Teramae, and Nobutaka Takayanagi

“Utilization of nanometre-order diameter columns inside porous anodic alumina for chromatography chip system”
Chemistry Letters 37, 18-19(2008)（査読有）

Shuji Kodama, Yuji Ito, Atsushi Taga, Yoko Nomura, Atsushi Yamamoto, Satoshi Chinaka, Kentaro Suzuki, Tomohisa Yamashita, Tomoko Kemmei, and Kazuichi Hayakawa

“A fast and simple analysis of glyphosate in tea beverages by capillary electrophoresis with on-line copper(II) glyphosate complex formation”
Journal of Health Science 54, 602-606 (2008)（査読有）

Tomohisa Yamashita, Shuji Kodama, Mikiya Ohto, Eriko Nakayama, Nobutaka Takayanagi, Tomoko Kemmei, Akira Yamaguchi, Norio Teramae, and Yukio Saito
“Use of porous anodic alumina membranes as a nanometre-diameter column for high performance liquid chromatography”
Chemical Communications 1160-1162 (2007)（査読有）

Shuji Kodama, Yuji Ito, Hirofumi Nagase, Tomohisa Yamashita, Tomoko Kemmei, Atsushi Yamamoto, and Kazuichi Hayakawa
“Usefulness of catechins and caffeine profiles to determine growing areas of green tea leaves of a single variety, in Japan”
Journal of Health Science 53, 491-495 (2007)（査読有）

Shuji Kodama, Sen-ichi Aizawa, Atsushi Taga, Tomohisa Yamashita, Tomoko Kemmei, Atsushi Yamamoto, Kazuichi Hayakawa
“Simultaneous chiral resolution of monosaccharides as 8-aminonaphthalene-1,3,6-trisulfonate derivatives by ligand-exchange CE using borate as a central ion of the chiral selector”
Electrophoresis 28, 3933-3939 (2007)（査読有）

Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto, Atsushi Sato, Kentaro Suzuki, Tomohisa Yamashita, Tomoko Kemmei, Atsushi Taga, Kazuichi Hayakawa
“Enantioseparation of isoxanthohumol in beer by hydroxypropyl- γ -cyclodextrin modified micellar electrokinetic chromatography”
Journal of Agricultural and Food Chemistry 55, 6547-6552 (2007)（査読有）

Shuji Kodama, Sen-ichi Aizawa, Atsushi Taga, Tomohisa Yamashita, Atsushi Yamamoto
“Chiral resolution of monosaccharides as 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone derivatives by ligand-exchange CE using borate anion as a central ion of the chiral selector”
Electrophoresis 27, 4730-4734 (2006)（査読有）

Akira Yamaguchi, Jun Watanabe, Mekawy M Mahmoud, Rise Fujiwara, Kotaro Morita, Tomohisa Yamashita, Yosuke Amino, Yong

Chen, Logudurai Radhakrishnan, and Norio Teramae
“Extraction mechanisms of charged organic dye molecules into silica-surfactant nanochannels in a porous alumina membrane”
Analytica Chimica Acta 556, 157-163 (2006)
(査読有)

Tomohisa Yamashita, Shuji Kodama, Mikiya Ohto, Eriko Nakayama, Sumiyo Hasegawa, Nobutaka Takayanagi, Tomoko Kemmei, Akira Yamaguchi, Norio Teramae, and Yukio Saito
“Permeation flux of organic molecules through silica-surfactant nanochannels in a porous alumina membrane”
Analytical Science 22, 1945-1500 (2006)
(査読有)

Akira Yamaguchi, Yosuke Amino, Kentaro Shima, Shintaro Suzuki, Tomohisa Yamashita, and Norio Teramae
“Local environments of coumarin dyes within mesostructured silica-surfactant nanocomposites”
Journal of Physical Chemistry B 110, 3910-3916 (2006) (査読有)

Akira Yamaguchi, Masaki Nakano, Kimihisa Nochi, Tomohisa Yamashita, Kotaro Morita, and Norio Teramae
“Longitudinal diffusion behavior of hemicyanine dyes across phospholipid vesicle membranes as studied by second-harmonic generation and fluorescence spectroscopies”
Analytical and Bioanalytical Chemistry 386, 627-632 (2006) (査読有)

〔学会発表〕(計3件)

山下 智富
「陽極酸化アルミナ薄膜の液体クロマトグラフィー用ナノカラムとしての利用」
日本化学会第 87 春季年会，2007 年 3 月，大阪，

山下 智富
「陽極酸化アルミナ薄膜の液体クロマトグラフィーチップ用ナノカラムとしての利用」
日本化学会第 88 春季年会，2008 年 3 月，東京

山下 智富
「ナノカラムを分離媒体とした液体クロマトグラフィーチップによるアデニン，AMP，ATP の水溶液移動相による分離」
日本化学会第 89 春季年会，2008 年 3 月，東京

6．研究組織

(1)研究代表者
山下 智富 (YAMASHITA TOMOHIISA)
富山県衛生研究所・化学部・主任研究員

研究者番号：10416092