

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：17601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05198

研究課題名(和文) 高分子超多孔体に固定化した機能性自己組織分子相の特性解析と分離への応用

研究課題名(英文) Characterization of functional self-assembled lipid molecular phase immobilized on macroporous polymer particles and its application to separation process

研究代表者

塩盛 弘一郎 (Shiomori, Koichiro)

宮崎大学・工学部・教授

研究者番号：80235506

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：疎水性モノマーのTrimと有機溶媒を用いて凍結状態で重合することにより疎水性クライオゲルを調製した。有機溶媒に酢酸とDMSOを用いた場合は超多孔体が形成された。疎水性クライオゲルにCu(II)の吸着剤のLIX84-Iを含浸させた。LIX84-Iは疎水性クライオゲルに内包されCu(II)を抽出できた。細孔分布を明らかにし、含浸担持した吸着剤の銅の吸着特性を明らかにした。多孔質ポリマー微粒子に固定化したリン脂質膜は、リポソームに類似した二分子膜構造を形成した。L-体とD-体のトリプトファン(Trp)の吸着を行い、L体のみを選択的に吸着し、L体とD体の混合溶液からL体のみを吸着するキラル認識吸着が行えた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

多孔質ポリマー微粒子に固定化したリン脂質膜がキラル認識能を発現した例は少なく、本研究により、固体表面上にリポソームに類似したリン脂質膜構造を形成し、キラル認識を行うことが示された。固体表面の修飾方法および表面の機能化で意義は大きい。

疎水性モノマーと有機溶媒を用いた疎水性クライオゲルを調製した。抽出剤のLIX84-Iを添加してゲルに内包して銅の吸着に応用出来ることを初めて示した。モノマー濃度、有機溶媒、および凍結温度が細孔特性におよぼす影響を明らかにした。疎水性の抽出剤は疎水性クライオゲルに内包され繰り返し抽出に使用出来た。これらの超多孔質材料を用いた新しい分離プロセスの構築が可能となる。

研究成果の概要(英文)：Hydrophobic cryogels were prepared by polymerization in a frozen state using the hydrophobic monomer, Trim, and organic solvents. When acetic acid and DMSO were used as organic solvents, super-macroporous cryogels were formed. The hydrophobic cryogels were impregnated with LIX84-I, an extractant for Cu(II); LIX84-I was impregnated in the hydrophobic cryogels and was able to extract Cu(II). The pore distribution was determined and the adsorption properties of the impregnated extractant for Cu(II) were elucidated.

Phospholipid membranes immobilized on porous polymeric microparticles formed a bilayer structure similar to liposomes; adsorption of L- and D-types tryptophan was performed, with selective adsorption of only L-tryptophan and chiral recognition adsorption of only L-body from mixed solutions of L- and D-tryptophans.

研究分野：反応分離工学

キーワード：クライオゲル 多孔性ポリマー微粒子 含浸担持 抽出剤 リン脂質膜 キラル認識 銅抽出 蛍光プローブ

### 1. 研究開始当初の背景

溶媒抽出法は、目的とする金属イオンへの選択性が高く液液抽出の操作が容易であり、金属の湿式精錬に用いられてきた。この時、有機溶媒に溶解される抽出剤の分子設計がキーであり、種々の構造の抽出剤が開発されている。抽出剤分子の金属イオンとの相互作用が重要であり、選択性を高めるために金属イオンとの配位結合生成に適した官能基の3次元配置、立体的に反発する構造を導入して金属イオンのサイズ差による錯体分子の形成制御、金属イオンとの相互作用部位の大きさを制御する等の高度な分子設計が行われてきた。一方、抽出剤分子の中に有機溶媒に親和性のある疎水基と金属イオンと錯体を形成する親水部分が共存し、金属イオンと相互作用する事により親水性が増加し、界面活性剤様の特性が強調され、安定なエマルションの生成や第三層の生成により、有機溶媒と水相の相分離が困難となり抽出が行えなくなる場合がある。この為、抽出剤を多孔質樹脂に含浸・固定化して使用する溶媒含浸樹脂(SIR)を用いる抽出剤を固定化する方法が開発された。

一方、界面活性剤の自己組織分子集合体を分離に用いる試みが行われている。逆ミセル抽出法は、有機溶媒中に界面活性剤が親水基を中心に向けた自己組織分子集合体の中心に形成されるナノサイズの微小水滴を利用して、微小水滴へのアミノ酸やタンパク質の溶解を利用して抽出を行う。また、リン脂質の作る二分子膜が閉じた構造のリポソームの膜表面への各種アミノ酸やタンパク質が相互作用することが知られており、アミノ酸のキラル分離が可能であることを阪大の馬越らが報告している[1]。

一方、多孔質吸着材に関する研究は以前より活発に行われている。最近ではシリカや有機ゲルの固体相と空隙が三次元的に配置されたモノリス吸着材が開発され、高い液体透過性から高速液体クロマトグラフィーのカラム担体や吸着材として注目されている[2]。また、高分子原料を溶解した水相を凍結状態で重合または架橋することにより生成した氷晶を鋳型とした多孔質の凍結ゲルが、生体系適合材料として細胞培養担体や分離媒体として応用されている[3,4]。凍結ゲルも大きな連結した細孔により、高い透過流速を実現でき、高性能のフィルターとしても応用が検討されている。申請者らはW/O/Wエマルションを出発状態として内水相の塩濃度を制御する事により内部に多数の連結した球状細孔を有する高分子微粒子を調製する方法を開発し、SIRの担体として有効である事を報告している[5,6,7]。

リポソームは液液分散系で、そのままでは分離プロセスには使い難い。申請者は、クライオゲルへのリポソームの固定化[8]や疎水性多孔質ポリマー微粒子にリン脂質を含浸担持する事により、リポソームと類似した脂質膜特性とアミノ酸のキラル認識が起こる事を見出している[9,10]。

これらの研究において、クライオゲルや多孔性ポリマー微粒子に含浸担持されたリン脂質の自己組織膜や抽出剤分子相の分子配置や配列構造と特性が全く明らかとされておらず(図1)、どの様な材質の多孔質材料が機能性自己組織分子相の固定化に適しているのか不明であった。

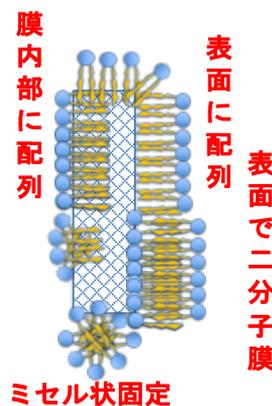


図1 機能性自己組織分子相の固定化状態のモデル図

### 2. 研究の目的

そこで本研究では、超多孔質材料の材料工学的な観点とリン脂質や抽出剤の自己組織分子相形成の観点から機能性分子相を担持した超多孔性吸着材の開発指針を確立するとともにアミノ酸のキラル分離、細胞外ベシクルのサイズ選択分離、環境汚染物質の除去および有用金属の選択的回収プロセスへの応用を行った。本研究で調製した連結球状細孔を有する高分子微粒子、単核型高分子微粒子、多核型高分子微粒子、クライオゲルおよび球状クライオゲルの概略を図2に示す。これらの超多孔質材料にリン脂質もしくは金属の抽出剤を含浸担持させてアミノ酸の吸着もしくは金属イオンの抽出を行い、超多孔質材料の設計指針の確立を目指した。

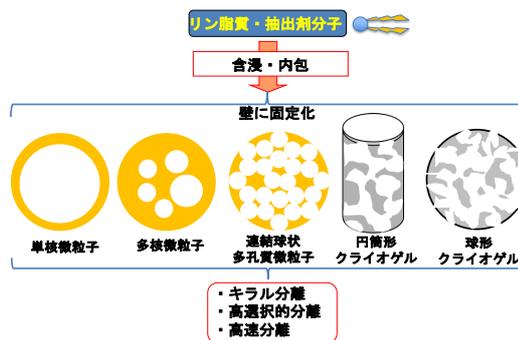


図2 用いた超多孔質材料のモデル図

### 3. 研究の方法

リン脂質または抽出剤の機能性分子相を担持させる超多孔質材料の調製は、種々の構造のエマルション状態を出発状態として *in situ* 重合法もしくは液中乾燥法により行い、内部に球状中空孔が形成した多孔質微粒子を調製した[6,7]。また、クライオゲル多孔質体は、モノマーを溶解した有機溶媒を凍結状態として重合を行い、その後融解させると凍結部分が細孔を形成して

得られた。疎水性クライオゲルの調製条件を表1に示す。

リン脂質や抽出剤などの機能性分子相は、これらの分子を揮発性溶媒に溶解した溶液に超多孔質材料を浸漬し、ロータリーエバポレーターで溶媒を留去して担持させた[6,7]。超多孔性材料の表面および断面の構造は走査型電子顕微鏡および光学顕微鏡で観察し、細孔構造は、水銀圧入細孔分布計と窒素ガス吸着細孔分布計により測定した。超多孔性材料に担持したリン脂質膜による L-アミノ酸の吸着および含浸担持した抽出剤による銅イオンの吸着特性は回分吸着により行い、水相に残存したアミノ酸の濃度を紫外可視分光光度計もしくは銅イオンの濃度を ICP 発光分光計により測定[6,7]し、初濃度との濃度差より算出した。

#### 4. 研究成果

##### (1) 疎水性クライオゲルの調製および Cu(II)抽出への応用

壁材料としてトリメタクリル酸トリメチロールプロパン(Trim)と種々の有機溶媒を用いて調製した疎水性クライオゲルの外観を図3に示す。ジオキサラン(DO)を用いて調製したものは、ゲルの強度が弱く崩れ易かった。以後は酢酸およびDMSOを用いて調製した疎水性クライオゲルを用いた。

酢酸およびDMSOを用いて調製した疎水性クライオゲルの断面をSEM観察した結果を図4に示す。酢酸を用いた場合で凍結温度が0°Cと-5°Cの場合は断面に細孔が観察されなかった。一方、酢酸を用いて-15°Cで調製した場合とDMSOを用いた場合はいずれの凍結温度でも細孔と薄い壁が観察され、超多孔質構造が形成された。疎水性クライオゲルの細孔容積と表面積を測定し、表2に示す。疎水性クライオゲルの細孔容積と比表面積は凍結温度の低下と共に大きくなった。凍結温度が低下すると共に溶媒の凍結部分が大きくなり細孔が形成されたためと考えられる。また、酢酸の場合、融点がDMSOより低い場合凍結温度が高い場合は、溶液が十分に凍結されず細孔が発達しなかったと考えられる。

疎水性クライオゲル調製時に銅のオキシム系抽出剤の LIX84-I を有機相に対する仕込み量を変化させて調製し、LIX84-I 内包クライオゲルを調製した。LIX85-I の内包量は、LIX84-I の仕込み量の増加に従い、直線的に増加した。

LIX84-I 内包クライオゲルを用いて Cu(II) の抽出平衡を測定した結果を図5に示す。水相の Cu(II) の増加に従いクライオゲル多孔質体に抽出された Cu(II) は増加した。また、LIX84-I の内包量が多いほど抽出された Cu(II) は増加した。吸着等温線をラングミュア型吸着等温式を用いて解析し、Cu(II) の最大抽出量を求め、LIX84-I の内包量  $E'$  に対してプロットしたものを図6に示す。Cu(II) の最大抽出量は、LIX84-I の内包量に対して直線的に増加し、傾き(1/2)の直線上にプロットされた。これは LIX84-I 二分子が Cu(II) の抽出に関与している事を示しており、溶媒抽出および連結球状多孔質微粒子に含浸担持させたときの結果[6]と同じであった。

疎水性クライオゲルの LIX84-I の内包量は、連結球状多孔質微粒子よりも多くなったことから、Cu(II) の最大抽出量も大きくなった。疎水性クライオゲルの壁部分の微小細孔に加え、連結した空隙部分にも抽出剤分子が液相として内包されていると考えられる。

LIX84-I 内包クライオゲルを用いた銅の抽出において、抽出と逆抽出を3回繰り返したところ、

表1 疎水性クライオゲルの調製条件.

DO[g]	酢酸[g]	DMSO[g]	Trim[g]	BPO[g]	EDMAB[g]	T[°C]
-	-	-	-	-	-	-
-	26.25	-	14.89	1.066	0.846	-15
-	-	27.51	11.91	0.853	0.677	-15
25.83	-	-	4.907	0.702	0.558	-15
-	26.25	-	7.445	1.066	0.846	-15
-	-	27.51	5.956	0.853	0.677	-15
25.83	-	-	4.907	0.702	0.558	-5
-	26.25	-	7.445	1.066	0.846	-5
-	-	27.51	5.956	0.853	0.677	-5
25.83	-	-	4.907	0.702	0.558	0
-	26.25	-	7.445	1.066	0.846	0
-	-	27.51	5.956	0.853	0.677	0
-	-	-	-	-	-	-
-	26.25	-	2.863	1.066	0.846	-15
-	-	27.51	2.978	0.853	0.677	-15



図3 疎水性クライオゲルの外観。  
反応溶媒：(a) DO; (b) 酢酸; (c) DMSO

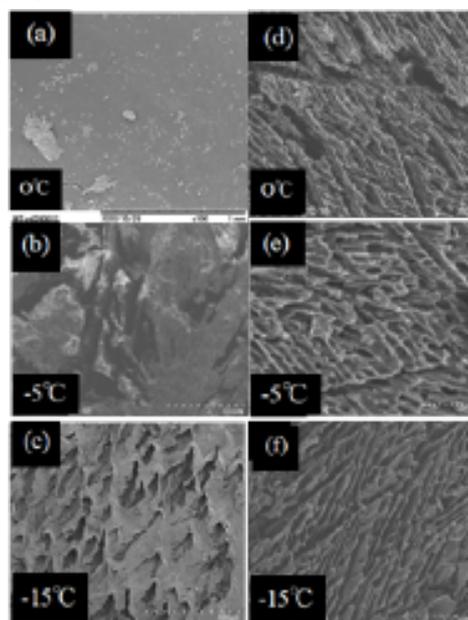


図4 異なる凍結温度で調製した疎水性クライオゲル断面のSEM観察. 酢酸: (a)0°C; (b) -5°C; (c) -15°C; DMSO: (d)0°C; (e) -5°C; (f) -15°C

表2 異なる凍結温度で調製した疎水性クライオゲルの細孔容積と比表面積

溶媒	温度[°C]	細孔容積[ml/g]	比表面積[m <sup>2</sup> /g]
酢酸	0	x	x
	-5	0.160	0.064
	-15	1.780	0.306
DMSO	0	0.843	0.338
	-5	1.438	0.435
	-15	1.803	0.748

抽出および逆抽出量はほぼ一定であったことから、抽出剤分子の漏洩は少ないと判断された。

酢酸または DMSO を溶媒、Trim を壁材として疎水性クライオゲルを調製出来た。同時に LIX84-I を溶解させておくことで抽出剤内包疎水性クライオゲルを調製出来、銅イオンを抽出出来ることが分かった。疎水性クライオゲルの抽出剤分子の内包は強固であり、繰り返し抽出が可能であることがわかった。

(2) 連結球状多孔質微粒子への L-リン脂質膜の含浸担持と L-アミノ酸の優先吸着 [11]

W/O/W エマルションを出発状態としてトリオクチルアミン内包マイクロカプセルを調製した [6, 7]。その後、連結球状多孔質マイクロカプセルに含まれる TOA をエタノールで溶出して除去後に DPPC をメタノール/クロロホルムに溶解した溶液に含浸担持させて溶媒を留去して DPPC 担持連結球状多孔質微粒子を得た。減圧乾燥後、蒸留水に浸漬して 50°C に 24h 維持してろ過乾燥させた。

DPPC 含浸連結球状多孔質微粒子の表面と断面の SEM 観察およびリン元素の EDX 分布図を図 7 に示す。微粒子の表面および内部には多数の連結した球状細孔がみられた。TOA の除去と DPPC 含浸の過程で細孔が崩れることは無かった。また、DPPC に由来するリン元素は内部および表面に検出され、DPPC は均一に担持されていると考えられる。

リン脂質を被膜していない多孔質微粒子は、温度に依らず L/D-Trp 共に吸着しなかった。DPPC 担持連結球状多孔質微粒子は、 $T_m$  以上の吸着温度では L/D-Trp 共にほとんど吸着しなかった。一方、 $T_m$  以下の吸着温度では L-Trp のみを選択的に吸着し、D-Trp はほとんど吸着しなかった。多孔質微粒子の表面に被膜した DPPC 膜は温度変化に対して膜物性が変化していると考えられ、リン脂質分子が高秩序に集積化する  $T_m$  以下の温度で複数の非特異的な相互作用が多点で誘起された結果、アミノ酸のキラル分子認識能を有すると考えられる。

さらに、再利用した DPPC-PP は 2 回目の L-Trp 吸着においても高い吸着能を有し、分離基材としての工学応用が期待できる。

<引用文献>

- 1 H. Umakoshi *et al.*: *ACS Applied Materials and Interface*, **7** (38), 21065-21072 (2015).
- 2 宇山 浩: *高分子論文集*, **67**(9), 489-496 (2010).
- 3 A. Kumar, A. Srivastava: *Nature Protocols*, **5**, 1737-1747 (2010).
- 4 L. Önnby *et al.*: *Water Res.*, **46**, 4111-4120 (2012).
- 5 Kitabayashi *et al.*: *Solvent Extr. Res. Develop, Jpn*, **20**, 137-147 (2013).
- 6 N. I. Inda *et al.*: *J. Chem. Eng. Japan*, **50**(2), 102-110 (2017).
- 7 N. I. Inda *et al.*: *Solvent Extr. Res. Develop, Jpn*, **25**(1) 23-36 (2018).
- 8 Y. Hiramure *et al.*; *Solvent Extr. Res. Develop, Jpn*, **25**(1) 37-46 (2018).
- 9 高瀬ら: 膜学会第 41 年会, P-57S (2019).
- 10 高瀬ら: 膜シンポジウム 2019, P-79S (2019).
- 11 H. Takase *et al.*: *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **216**, 112535 (2022)

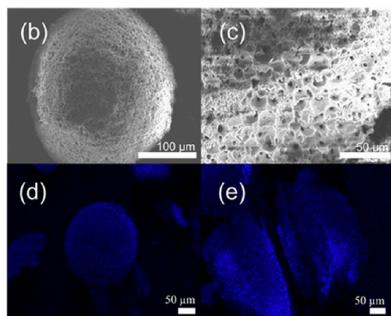


図 7 DPPC 含浸担持連結球状多孔質微粒子の表面と断面の SEM 観察およびリン元素の EDX 分布

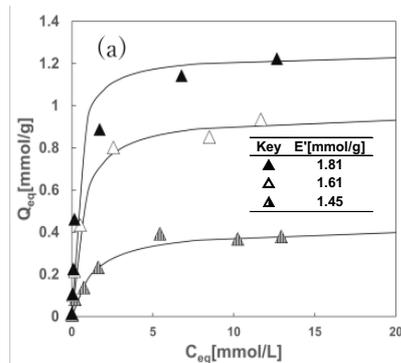


図 5 LIX84-I 内包疎水性クライオゲルによる Cu(II) の抽出等温線. (a) 酢酸

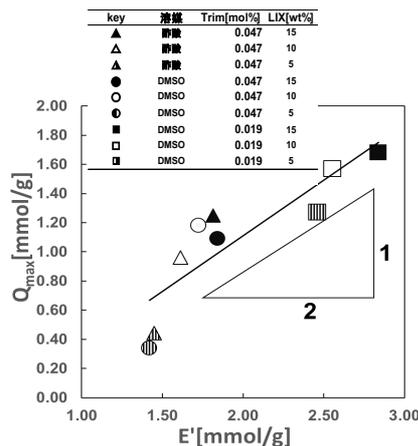


図 6 LIX84-I の内包量  $E'$  と Cu(II) の最大抽出量  $Q_{max}$  との関係

さらに、再利用した DPPC-PP は 2 回目の L-Trp 吸着においても高い吸着能を有し、分離基材としての工学応用が期待できる。

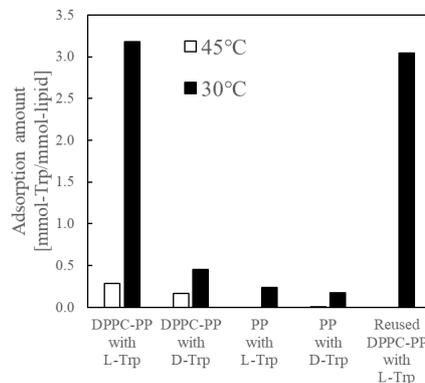


図 8 DPPC 含浸担持連結球状多孔質微粒子による 45°C または 30°C での L-および D-トリプトファン の吸着量

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 5件 / うちオープンアクセス 6件）

1. 著者名 Takase Hayato, Suga Keishi, Matsune Hideki, Umakoshi Hiroshi, Shiomori Koichiro	4. 巻 216
2. 論文標題 Preferential adsorption of L-tryptophan by L-phospholipid coated porous polymer particles	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Colloids and Surfaces B: Biointerfaces	6. 最初と最後の頁 112535 ~ 112535
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.colsurfb.2022.112535	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Batchuluun Sukhbaatar, Yasui Kentaro, Matsune Hideki, Shiomori Koichiro, Kiyoyama Shiro, Bayanjargal Ochirkhuyag	4. 巻 55
2. 論文標題 Preparation and Characterization of Polystyrene Microcapsule Containing Phase Change Material by Volatile Exchange Impregnation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 JOURNAL OF CHEMICAL ENGINEERING OF JAPAN	6. 最初と最後の頁 217 ~ 224
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1252/jcej.21we120	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Sukhbaatar Batchuluun, Hideki Matsune, Koichiro Shiomori, Ochirkhuyag Bayanjargal and Tserenkhand Baasankhuu	4. 巻 54
2. 論文標題 Preparation of polystyrene microcapsules containing saline water droplets by solvent evaporation method and their structural distribution analysis by machine learning	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Chemical Engineering of Japan	6. 最初と最後の頁 517-524
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1252/jcej.21we052	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Shiomori K, Matsune H, Kiyoyama S, Takei T, Yoshida M, Umakoshi H	4. 巻 1763
2. 論文標題 Recent developments of microcapsules and polymer particles for separation medium	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Physics: Conference Series	6. 最初と最後の頁 012011 ~ 012011
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1088/1742-6596/1763/1/012011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 塩盛弘一郎, 宮武宗利, 松根英樹, 清山史朗, 武井孝行, 吉田昌弘	4. 巻 71
2. 論文標題 高分子を壁物質に用いたマイクロカプセル・機能性微粒子の特徴と事例	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 プラスチック	6. 最初と最後の頁 9-19
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計16件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 Koichiro Shiomori, Nov Irmawati Inda, Shiro Kiyoyama, Takayuki Takei, Masahiro Yoshida, Hideki Matsune
2. 発表標題 Extraction properties of Cu(II) from aqueous solution with PVA/Alg cross-linked gel microcapsules immobilizing fine droplets of phenolic oxime extractant
3. 学会等名 3rd-International Seminar on Science and Technology 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 吉川公貴, 松根英樹, 清山史郎, 武井孝行, 吉田昌弘, 塩盛弘一郎
2. 発表標題 2-エチルヘキシルホスホン酸-モノ-2-エチルヘキシルを内包したPVA/アルギン酸架橋ゲルマイクロカプセルによるLaとCeの抽出特性
3. 学会等名 第40回溶媒抽出討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 合谷直敏, 松根英樹, 清山史朗, 塩盛弘一郎
2. 発表標題 ヒドロキシオキシム系抽出剤を含有した疎水性クライオゲルによるCu(II)の抽出
3. 学会等名 第40回溶媒抽出討論会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高瀬隼, 岡本行広, 渡邊望美, 松根英樹, 塩盛弘一郎, 馬越大
2. 発表標題 リン脂質被覆クライオゲル粒子の膜特性評価
3. 学会等名 膜シンポジウム 2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 高瀬 隼, 菅 恵嗣, 馬越 大, 塩盛 弘一郎
2. 発表標題 リン脂質被膜多孔質微粒子によるアミノ酸のキラル分子認識
3. 学会等名 膜シンポジウム 2020
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 合谷直敏, 松根英樹, 清山史朗, 塩盛弘一郎
2. 発表標題 疎水性クライオゲルの調製および抽出剤内包による銅抽出,
3. 学会等名 化学工学会第86年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 ポリジビニルベンゼン多孔質微粒子の残存ビニル基の表面特性への影響
2. 発表標題 夏井雄吾, 松根英樹, 清山史朗, 武井孝行, 吉田昌弘, 塩盛弘一郎
3. 学会等名 化学工学会第86年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 マイクロカプセルの製造方法及びマイクロカプセル	発明者 塩盛 弘一郎, スフ バトル バトチュ ルン, 他2名	権利者 発明者: 国立大 学法人 宮崎大 学, 株式会社M
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-133994	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	松根 英樹  (Mastune Hideki)  (10380586)	宮崎大学・工学教育研究部・准教授   (17601)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力者	馬越 大  (Umakoshi Hiroshi)  (20311772)	大阪大学・基礎工学研究科・教授   (14401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
モンゴル	National University of Mongolia		