

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 24 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2014

課題番号：26620099

研究課題名(和文) SECカラム中で分離されている高分子の中性子散乱による直接コンフォメーション解析

研究課題名(英文) Investigation of conformation of polymers separated in SEC column by SANS.

研究代表者

高野 敦志 (Takano, Atsushi)

名古屋大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：00236241

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：シリカゲルからなるSECカラムを使用し、充填粒子の細孔構造評価をSEM、TEMおよび3D-TEMを用いて行った。SEM観察より、シリカゲル粒子は粒径分布が狭く、平均粒径が約 $9\mu\text{m}$ を有することが確認された。またシリカゲル粒子の超薄切片のTEM観察より、細孔はゲル内部まで均一に存在していることが確認された。さらにゲル粒子内部を3次元TEM観察したところ、シリカゲル内部は3次元共連続網目構造をとっており、最大空隙サイズは実測で最大60nm程度と見積もられた。また、カラム中の粒子の充填構造をSEM観察したところ、ゲル粒子間には多数の隙間が存在し、ゲル粒子は最密充填されていないことも確認された。

研究成果の概要(英文)：Although the size exclusion chromatography (SEC) is commonly-used characterization method for polymers, there are no rigorous studies concerning about separation mechanism at the molecular conformation level. Furthermore the mesopore structures and the packing manners of gel particles in the columns are hardly investigated. In this study, firstly the silica gel particles for SEC were exactly characterized by SEM, TEM and 3D-TEM. Secondly SEC measurements were carried out by using standard polystyrene samples in various solvents. It has been confirmed that silica gel particles have the cocontinuous pore structures and the maximum pore size in gel is consistent with the chain dimensions of polystyrenes in solutions.

研究分野：高分子物性

キーワード：サイズ排除クロマトグラフィー 分離機構 コンフォメーション 中性子散乱

1. 研究開始当初の背景

高分子の分子量や分子量分布などを調べる手段として、一般的にサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) がよく利用されている。歴史的には Moore らにより多孔性高分子ゲルの開発とカラムの分離能の発見がなされ、その後、分離様式は Casassa らによるモデルを用いて理論的に説明が行われている。そのカラム中の高分子の分離においては、多孔性高分子ゲルやシリカゲルが充填された SEC による固定相と高分子間に相互作用がないことを前提として「逆ふるい効果」によって分離が行われると考えられている。そしてこの分離機構は、カラム全体をブラックボックスとして説明したり、あるいは充てん剤の細孔の形を仮定して、細孔の内と外とでの試料のエントロピーの差から分配係数を計算することにより説明されている。しかし、実際の高分子がカラム内をどのように通過しながら分離されるのか? という問題については、高分子の分離の様子 (言い換えれば、分離が行われている高分子鎖のコンフォメーション) を直接分子レベルで調べた例は皆無である。また、それ以前にゲル粒子内部の細孔構造やカラム内へのゲル粒子の 3 次元充填構造について厳密に調べられた例はほとんどないのが現状である。

2. 研究の目的

本研究では、ブラックボックスとして、あるいは経験から導かれた仮定の上に説明されている SEC の分離機構を実験的に明らかにすることを目標に、まず、SEC 用ゲルカラム内のゲル粒子の内部細孔構造と、カラム内におけるゲル粒子間の充填構造を 3D-TEM を用いて厳密にキャラクタリゼーションを行う。さらに構造解析された SEC ゲルカラムを用いて、カラム中で分離が行われている高分子鎖のコンフォメーションを中性子散乱法により直接観察することを目指す。そして、両結果の相関から SEC の分離機構を考察する。

本研究により、SEC ゲル粒子の厳密な 3 次元構造情報と、分離中の高分子のコンフォメーションの情報が得られ、両者の相関から、SEC の分離に関する重要な知見が得られると考えられる。また、この取り組みはこれまでブラックボックス、あるいはある仮定の上に説明されてきた SEC 分離が実際どのようになされているのかという、いわゆる「高分子科学の未解決問題」に対して解答を与えることができると考えられる。

3. 研究の方法

本研究では SEC カラムの 3D-TEM による精密構造解析と、分離中のポリマーの SANS 測定が研究の二本柱となる。利用する SEC カラムは、TEM による構造解析が容易で、かつ中性子散乱測定に適した材質を用いる必要がある。通常、SEC 用のカラム充填剤には (1)

高分子系の多孔性架橋ゲル、あるいは (2) 多孔性シリカゲルが利用されている。いずれのゲルともマイクロトームによるスライスが可能であることから、超薄切片を用いた TEM 観察は可能である。しかし、中性子散乱測定においては高分子系ゲルを使用した場合、ゲルからの散乱が著しく強く現れ、ゲル中で移動・分離が行われている測定対象となるポリマーからの散乱に対して非常に大きなノイズとなることが予想される。一方、シリカゲルを利用した場合、ある程度の非干渉性散乱は現れるが、測定対象となるポリマーの散乱に対しては大きな影響は及ぼさないと考えられる。従って、本研究では、市販のシリカゲルを充填したカラムを利用して、以下の TEM による構造解析と SANS による拡がり (コンフォメーション) 測定を行う。

(1) SEC カラムの TEM による精密構造解析: SEC 用カラムとしては市販のシリカゲルカラム (内径 8mm、カラム長 300mm、粒径 7 μ m、ポアサイズ 150nm) を使用し、以下の測定を行う。

1) カラムからゲル粒子を取り出し、導電性テープ上に固定し、金コーティングした後、表面形態を SEM 観察する。

2) さらに、カラムから取り出したゲル粒子をエポキシ樹脂に包埋した後、ウルトラマイクロトームとダイヤモンドナイフを用いて 150nm 厚の超薄切片とし、内部の投影構造を TEM 観察する。

3) 同様の試料を利用して、試料を傾斜角 -60deg ~ +60deg の間で 2deg 毎に傾斜像を取得し、3 次元再構築を行う。この 3D 構造解析により、ゲル粒子内の細孔がどのようなサイズで分布を有しているのかを調べる。

4) 別途用意した市販シリカゲルカラムをスチレン + ジビニルベンゼンで完全に満たし、120 で重合させ、ゲル粒子が充填された状態をそのまま硬化させる。この硬化試料を上記 2 の操作と同様にウルトラマイクロトームとダイヤモンドナイフを用いて 150nm 厚の超薄切片とし、SEM、あるいは TEM 観察する。ゲル粒子間の空隙の構造解析を行う。

5) 上記シリカゲルカラムに溶媒 THF を 1mL/min で送液することにより通常の SEC 測定を行う。試料としては標準ポリスチレン (分子量: 1k、4k、10k、40k、100k、400k、1000k) およびトルエンを用い、検量線の作成を行う。SEC 測定から得られた排除限界分子量におけるポリスチレンの回転半径 (THF 中におけるポリスチレンの回転半径の分子量依存性データから推算) と上記 3D-TEM 観察により求められた最大細孔サイズとを比較し、どのような相関があるのかを考察する。

(2) SANS による SEC 分離中のポリマーの拡がり (コンフォメーション) 測定:

上記の厳密な構造解析が行われたゲル粒子を用いてこれを特注の純アルミ製カラムを作製し、この中にゲル粒子を充填後、以下の手順で小角中性子散乱 (SANS) 測定を行う。

1) 中性子散乱 (SANS) 測定に使用する高純度アルミ製特注カラムを作製する。(直径 10mm の中性子ビームが透過できるような平板状カラムで厚みは約 2mm 程度のものを設計し、作製する。)

2) カラム内にパッカーを用いて市販シリカゲルカラムのゲル粒子を充填する。溶媒としてテトラヒドロフランを送液し、分離能があることを確認する。

3) 分離能があることが確認されたならば、溶媒をポリスチレンの重水素化テトラヒドロフラン溶液に交換し、ポリマー溶液を送液した状態で中性子ビームを入射して SANS 測定を行う。この際、ポリマーの濃度は 0.2%、0.4%、および 0.6% とし、それぞれ専用のポンプを用いて測定を行う。また、重水素化テトラヒドロフラン溶媒のみの測定や、溶媒の入っていない空状態のカラムについても測定を行う。

4) これらの測定から、各濃度における散乱強度を求め、濃度 0 の散乱強度を求め、ギニエプロットを行うことにより、回転半径を求める。

5) シリカゲルカラム中、送液を止めた条件でも同様の測定を行い、回転半径を求め、送液を行っているときと、止めているときの回転半径の比較を行う。

6) さらに、石英製セルを用いて、上記溶液の測定を行い、通常の溶液中における条件下での回転半径も求め、シリカゲルの有無がポリマーの拡がりに及ぼす影響を調べる。

7) 分子量の異なるポリスチレン/重水素化テトラヒドロフラン溶液について上記の測定を行い、先にカラムの精密構造解析により得られている最大細孔サイズに対して回転半径がどのような相関があるかを検討する。すなわち、SANS 測定においてはゲル粒子の最大細孔サイズに対して、およそ侵入可能な回転半径の試料と、十分に侵入可能な試料、さらに進入することのできない大きな回転半径を有するポリスチレンを選択し、それぞれ測定を行う。

4. 研究成果

SEC カラムとして市販のシリカゲルカラムを使用し、シリカゲル粒子の細孔構造評価を SEM、TEM および 3D-TEM を用いて行った。SEM 観察より、シリカゲル粒子は粒径分布が狭く、平均粒径が約 9 μ m を有することが確認された。またシリカゲル粒子の超薄切片の TEM 観察より、Figure 1 のように細孔はゲル内部まで均一に存在していることが確認された。さらにゲル粒子内部を 3 次元 TEM によって観察したところ、シリカゲル内部は 3 次元共連続網目構造をとっており、最大空隙サイズ (= 細孔径) は実測で最大 60nm 程度と見積もられた (Figure 2)。重合架橋したカラム中のシリカゲル粒子の充填構造を SEM で観察したところ、ゲル粒子間には多数の隙間が存在し、ゲル粒子は最密充填されていないことも確

認された。

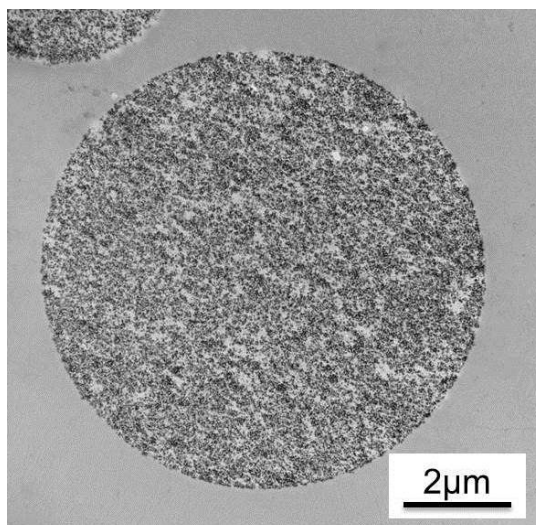


Figure 1 TEM image of sliced silicagel particle for SEC column.

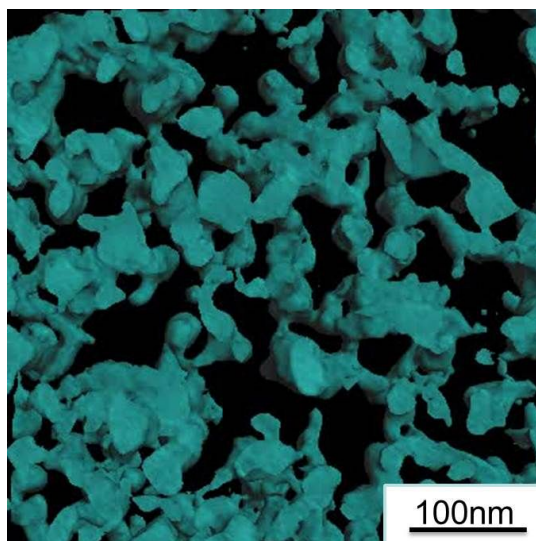


Figure 2 3D-TEM image of sliced silicagel particle for SEC column.

この構造解析されたカラムを用いて THF 中、標準ポリスチレン 7 試料、ならびに溶媒 (トルエン) を用いて SEC 測定を行った。カラムの分離可能分子量は 5k Mw 430k であった。排除限界分子量 430k における THF 中のポリスチレンの拡がりは、回転直径 60nm に相当する。これは 3D-TEM から見積もった最大細孔径と一致していることが確認された。さらに溶離液としてマロン酸ジエチル (DEM、溶媒)、2-ブタノン (MEK、中間溶媒) を用いて同様に SEC 測定を行ったところ、THF、MEK、DEM の溶媒クオリティーが低下する順に溶出が遅くなり、排除限界分子量も大きくなることが確認された。このことは溶媒のクオリティーによらず一定の細孔径 (60nm 程度) を持つ細孔内に侵入できる高分子の大きさにより、分離が行われていることが定量的に示された (Figure 3)。

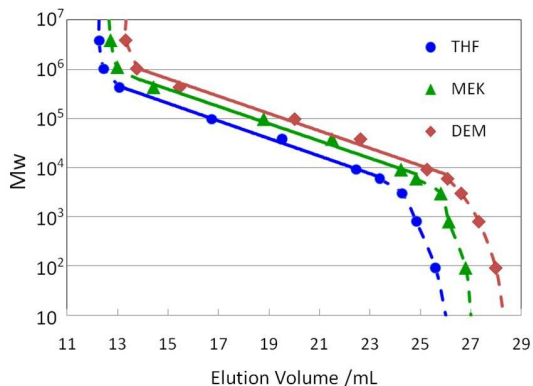


Figure 3 SEC calibration curve of silicagel column using ten standard polystyrene samples

さらに、小角中性子散乱 (SANS) 測定を行うため、特注の純アルミ製カラムを作製し、上述の構造解析が行われたゲル粒子を充填したカラムを作成した (Figure 4)。



Figure 4 Silicagel-packed SEC column made by aluminum specially designed for SANS measurement.

そして 2014 年度の 1 年間の中で韓国原子力研究所 HANARO の 40m-SANS のビームタイムを 2 回に確保した (2014 年 7 月、および 2015 年 2 月)。しかし、いずれも HANARO におけるトラブル (第 1 回目は研究所内の火災、第 2 回目は韓国政府による安全チェック) により、測定日直前にビームタイムがキャンセルになり、結局、測定は実現しなかった。

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 0 件)

〔学会発表〕(計 1 件)

木下敬太、高野敦志、松下裕秀、高橋良彰、「バルク中における環状高分子の形態に及ぼす線状高分子の添加の影響」第 63 回高分子討論会、2014 年 9 月 25 日、長崎 (口頭)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://morpho.apchem.nagoya-u.ac.jp/mem/ber-takano.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高野 敦志 (TAKANO ATSUSHI)

名古屋大学・大学院工学研究科・准教授

研究者番号：00236241

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし