

平成 21年 5月26日現在

研究種目：基盤研究(A)
 研究期間：2006～2008
 課題番号：18205011
 研究課題名(和文) 広範な物質次元に対応する分離概念の構築
 研究課題名(英文) Development of Separation Concepts Applicable to Various Material Dimensions

研究代表者
 岡田 哲男 (OKADA TETSUO)
 東京工業大学・大学院理工学研究科・教授
 研究者番号：20183030

研究成果の概要：

分離対象の物質の大きさの次元と寿命に相当する時間次元の観点から以下の検討を行った。具体的な手法としては、ワイドポアハイドロダイナミッククロマトグラフィー、電場スイッチング、超音波/重力複合場による粒子分離と高速分離、イオン移動ポルタンメトリー、X線吸収微細構造による分離場における物質構造の解明、低温分離が可能で新規な方法論としての潜在性をもつアイスクロマトグラフィーなどについて検討し、種々の新分離概念を考案、構築した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	20,200,000	6,060,000	26,260,000
2007年度	6,600,000	1,980,000	8,580,000
2008年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
年度			
年度			
総計	30,900,000	9,270,000	40,170,000

研究分野：分析化学

科研費の分科・細目：複合化学・分析化学

キーワード：粒子分離、高速分離、氷、分子集合体

1. 研究開始当初の背景

様々な分離法がこれまでに確立されている。とりわけクロマトグラフィーと電気泳動は最も広く活用されている分離法である。前者では、種々の化学的分離場を用いて主に低分子から分子量1万程度までの高分子が分離されるのに対し、後者では電場により低分子から粒子に至るまでの広い範囲の物質が分離される。しかし、既存の方法が対応できない物質次元が数多く存在する。

時間次元を物質次元と捉えると、既存分離法の対象になる物質はいわゆる安定物質がほとんどであり、活性の高い(寿命の短い)物質が分離対象になることはほとんどない。

つまり、既存分離は時間次元の短い方向には広がりを持っていない。

また、物質の空間的次元にも、既存分離法は多くの弱点をもっている。既存法の多くは、低分子の分離に特化しており、大きな物質の空間次元に適用できる方法は極端に少ない。たとえば、高分子の分離には、電気泳動や分子ふるいが用いられるが、これらの方法の分離能はかなり限定されている。既存分離法の弱点は物質の空間次元と共にさらに著しくなり、nm以上の大きさをもつ物質の分離法はきわめて貧弱である。

2. 研究の目的

上述の背景に鑑み、本研究では、空間と時間を物質次元と捉え、既存の分離法が適用できない物質次元の分離と解析を可能にする新しい概念を創出することを主な目的とした。物質分離には種々の物理場、分子間相互作用を利用する。分離原理、概念の開拓と平行してこれらの分離場について基礎的な理解を図り、分離概念の創出に資することとした。

3. 研究の方法

研究に用いた主な方法は以下のように要約することができる。

(1) ワイドボアハイドロダイナミッククロマトグラフィー(W-HDC)

この方法は、拡散の違いを利用して分離する方法であり、研究代表者らを除いて研究例のほとんどない手法である。分離能は低いが本研究の目的である高速化には適した手法である。

(2) 電場スイッチング

電場スイッチングにより仮想的電場を生成し、粒子やイオンの挙動を検討した。

(3) 超音波/重力複合場

研究代表者らのオリジナルな方法であり、粒子の大きさによらず、音響物性のみを見分けるユニークな物理場である。粒子分離および粒子上で起きる反応の追跡手段と位置付け検討を行った。

(4) イオン移動ポルタンメトリー

この方法は分離場におけるイオンの溶媒和エネルギーを求めるために用いた。

(5) X線吸収微細構造(XAFS)

分離場におけるイオンの溶媒和構造を検討するために用いた。

(6) アイスクロマトグラフィー

低温での分離を可能にし、氷界面での分子挙動を明らかにできる独創的手法である。

4. 研究成果

(1) 粒子分離

超音波場内でのイオン交換樹脂粒子の挙動が、粒子の密度よりむしろ圧縮率によって決定されることを明らかにし、これを利用してイオン交換樹脂対イオンの違いを超音波場内での粒子凝集座標から識別可能であることを示した。これを発展させ、イオン交換樹脂1粒で起きるイオン交換過程の動的評価を行い、Nernst-Planck式との比較から粒子内でのイオンの拡散係数を評価できる可能性を示した。また、英国 Southampton 大学の理論系研究者との共同研究により系の設計が大幅に改善することに成功した。さらに、超音波チャンネルを用いて高分子粒子を分離可能であることを示した。この図1にポリスチレン(PS)とアクリル系粒子の超音波-重力複合場による分離例を示す。

電場スイッチングによって仮想的な電場を発生させ、粒子マニピュレーション、粒子分離のための新しい方法を考案した。粒子挙動の例を図2に示す。この図は、負に帯電したPS粒子を仮想的に生じた縦方向の電場に従って移動させ、中央のアノード付近にバンド状に凝集させた様子を示している。切り替え電場による粒子のマニピュレーションでは、単一粒子のトラジェクトリーの追跡を可能とし、計算で求めた電場との整合性を議論した。さらに、これを分子レベルまで適用できるように検討を行った。拡散や電場による流れの影響を防ぐためにアガロースゲルを用いて蛍光性色素や蛍光ラベルしたタンパク質への適用を確認した。ローダミン6Gの切り替え電場内での挙動の追跡から、予想した通りの電場が生じており、粒子だけでなく分子のマニピュレーションの可能性を得た。



図1 超音波重力複合場チャンネルを用いる粒子分離

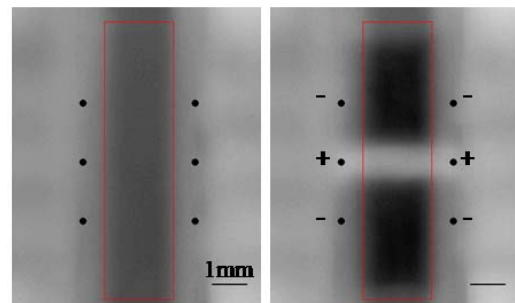


図2 電場スイッチングによるPS粒子の凝集
左：電場なし。右：中央アノード

(2) 高速分離による不安定な化学種の分離と速度論的評価

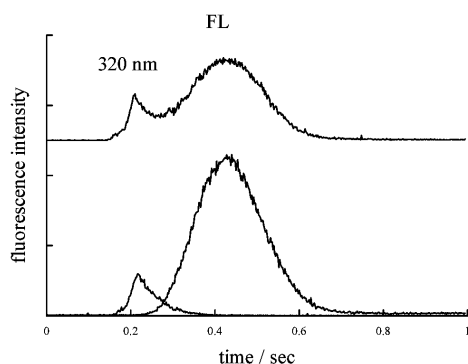


図3 W-HDCによるフルオレセインとナノ粒子のサブ秒高速分離

蛍光顕微鏡下でハイドロダイナミッククロマトグラフィー(HDC)を行い、ポリスチレンスルホン酸に結合したローダミンの解離を追跡できるような系の設計を行い、2つの可能性を見出した。一つはHDCの特性を利用した安定混合による反応追跡であり、ストップフロー同様の反応解析法となり得る。他の一つはHDCのピーク形状解析であり、数値解析によって速度論的パラメータの算出について検討を行った。また、この研究を通じてPSS-ローダミン系は極めて特徴的な溶液挙動をするを見出した。

さらに、WHDCの微細化による高速化を行い、フルオレセイン、蛍光ラベルナノ粒子などを最短0.5秒で分離できる実験系の実現に成功した。結果を図3に示す。これに関連して、高速超微量試料注入装置の開発を行った。現在、分離時間を数十ミリ秒まで短縮することに成功している。

また、分離の間に反応を伴うWHDCに関する、流れと分離のシミュレーション手法を開発した。これにより、WHDCの速度論的な利用と、そこから定量的なデータを取り出すことが可能になった。

(3) 分離場におけるイオンの溶媒和

分離場の一例として、ポリエチレングリコールの高濃度水溶液をモデルとする、非イオン性ミセル親水層でのイオンの溶媒和について熱力学、構造両面から検討を行った。非イオン性界面活性剤親水層はイオンの分離や界面、コロイド化学の立場から興味深い。液液界面移動ボルタンメトリー、電気泳動、X線吸収微細構造などを有効に併用することによって、非熱力学的仮定を用いずに単独イオンのミセル親水層での溶媒和を評価し、さらにその溶媒和構造を明らかにした。ポリエ

チレングリコールの濃厚水溶液中でのカリウムイオンや臭化物イオンの構造と溶媒和エネルギーの関係を解明した。特に後者ではポリエチレングリコール分子の水和圏内への進入を定量的に解析することに成功した。また、ポリスチレンスルホン酸、アルブミン等の濃厚高分子溶液中におけるイオンの溶媒和エネルギーと構造解析から、第二水和圏の水和エネルギーが概ね10-15kJ/molであることを明らかにした。

さらに、XAFSを用いて、イオン性ミセル表面に吸着したイオンの溶媒和構造を明らかにし、完全水和したイオンとイオン性ミセルを構成する界面活性剤に直接イオン会合したイオンが混在することを始めて実験的に明らかにした。この結果は、イオンの分離設計などに有用な情報となることが期待される。

(4) 氷を用いる分離

新規分離概念として、氷を用いるアイスクロマトグラフィーを提唱し、物質分離が可能であること、温度によって保持機構が変わることなどを明らかにした。低温では氷表面との水素結合を介する吸着が主な保持機構であり、氷表面と溶質間の相互作用を明らかにするためのモデル化を行い、同時に2点程度の水素結合が生じていることを明らかにした。溶質が3個以上の極性基を含む場合であっても、3つ以上の水素結合が同時に生じることはなく、これは分子構造に基づく立体的制約によると考えられる。一方、高温では氷表面に混合水溶液薄層が成長し、この層への分配が支配的な保持機構になる。この減少を利用して、アイスクロマトグラフィーにより始めて有機相/氷界面に生成する擬似液相の厚さを定量的に評価した。

また、このような精密な議論ができるような再現性と分離能の高い固定相調整法を確立した。現在平均粒径10マイクロメートル程度の氷粒子の調整に成功している。分離の一例を図4に示す。ここではアミノ酸の誘導体の分離に成功しており、この分離は構造から推測される序列に従っている。

電解質をドープした氷では氷と液相が共晶点以上で共存する。この共存液相には物質

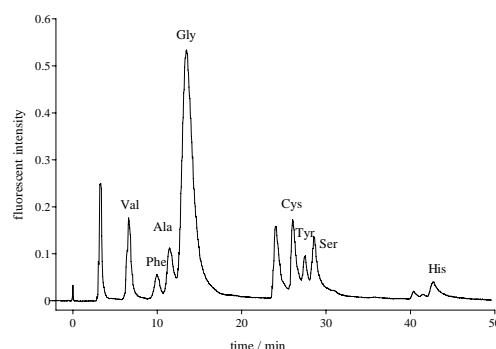


図4 アイスクロマトグラフィーによるアミノ酸OPA誘導体分離の一例

分配が起き、温度と電解質濃度により吸着／分配のスイッチングが可能である。さらに、モデル化を通じて共存液相の大きさが概算可能であることを示した。

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 23 件)

- ① H. Kakuda, T. Okada, M. Otsuka, Y. Katsumoto, T. Hasegawa, Multivariate Analysis of DSC-XRD Simultaneous Measurement Data: a Study of Multistage Crystalline Structure Changes in a Linear Poly(ethylene imine) Thin Film, *Anal. Bioanal. Chem.* **393**, 367-376 (2009). 査読有
- ② Y. Tasaki, T. Okada, Adsorption-partition Switching of Retention Mechanism in Ice Chromatography with NaCl-doped Water-ice, *Anal. Sci.* **25**, 177-181 (2009) 査読有
- ③ M. Yamada, M. Harada, T. Okada, Electrophoretic Levitation of Particles by Field Switching, *Anal. Sci.* **25**, 279-284 (2009) 査読有
- ④ R. Umehara, M. Harada, T. Okada, Wide-bore Hydrodynamic Chromatography in Sub-second Range, *J. Sep. Sci.* **32**, 472-478 (2009) 査読有
- ⑤ Y. Tasaki, T. Okada, Facilitation of Applicability in Ice Chromatography by Mechanistic Considerations and by Preparation of Fine Water-ice Stationary Phase, *Anal. Chem.* **81**, 890-897 (2009) 査読有
- ⑥ Y. Tasaki, T. Okada, Ice Chromatographic Characterization of Thin Liquid Layer at the Interface between Water-ice and Organic Solvent, *J. Phys. Chem. C*, **112**, 2618-2623 (2008) 査読有
- ⑦ Y. Tasaki, T. Okada, Ice Chromatography. Modification of Solute Retention on Water-ice Stationary Phase, *J. Chromatogr. A*, **1189**, 72-76 (2008). 査読有
- ⑧ M. Harada, T. Okada, Hydration of Counterions in Cation-Exchange Resins Studied by X-ray Absorption Fine Structure, *Chem. Commun.*, 5182 - 5184 (2008) 査読有
- ⑨ T. Ohki, M. Harada, T. Okada, Perturbation of Second and Farther Hydration Shells of Alkali Cations and Bromide in Concentrated Aqueous Protein as a Water-Shortage Medium, *J. Phys. Chem. B*, **112**, 11863-11867 (2008). 査読有
- ⑩ H. Kakuda, T. Okada, T. Hasegawa, Anisotropic Molecular Structure in Dip-Coated Films of Linear Poly(ethylene imine) Studied by Infrared Multiple-Angle Incidence Resolution Spectrometry, *J. Phys. Chem. B*, **112**, 12940-12945 (2008). 査読有
- ⑪ S. Hirawa, T. Masudo, T. Okada, Acoustic Recognition of Counterions in Ion-exchange Resins, *Anal. Chem.* **79**, 3003-3007 (2007) 査読有
- ⑫ T. Masudo, T. Okada, Microparticle Separation with Acoustic-gravity Field Controlled by Phase-shift Operation, *Anal. Sci.* **23**, 385-387 (2007) 査読有
- ⑬ T. Ohki, M. Harada, T. Okada, Structural and Thermodynamic Aspects of Ionic Solvation in Concentrated Aqueous Poly(ethylene glycol), *J. Phys. Chem. B*, **111**, 7245 - 7252 (2007) 査読有
- ⑭ T. Aoki, M. Harada, T. Okada, Characterization of Bromide Ions in Charge-stacked Zwitterionic Micellar Systems, *Langmuir*, **23**, 8820-8826 (2007) 査読有
- ⑮ M. Harada, H. Satou, T. Okada, Hydration Structures of Bromides on Cationic Micelles, *J. Phys. Chem. B*, **111**, 12136-12140 (2007) 査読有
- ⑯ T. Aoki, M. Harada, T. Okada, Electrolyte-Induced Phase Separation and Charge Reversal of Cationic Zwitterionic Micelles, *Langmuir*, **23**, 12473-12477 (2007) 査読有
- ⑰ T. Hasegawa, Y. Sato, T. Okada, M. Shibukawa, C. Li, J. Orbulescu, R. Leblanc, Inhibition of Aggregation of a Biomimic Peptidolipid Langmuir Monolayer by Congo Red Studied by UV-Vis and IR Spectroscopies, *J. Phys. Chem. B*, **111**, 14227-14232 (2007) 査読有
- ⑱ Y. Tasaki, T. Okada, Ice Chromatography. Characterization of Water-ice as a Chromatographic Stationary Phase, *Anal. Chem.* **78**, 4155-4160 (2006) 査読有
- ⑲ A. Wada, M. Harada, T. Okada, Kinetic Monitoring of Electrophoretically Induced Solute Reaction by Axial Absorption Detection with Liquid-core Waveguide, *Anal. Chem.* **78**, 4709-4712 (2006) 査読有
- ⑳ M. Harada, T. Okada, Structures of

18-crown-6 Complexes with Alkali Cations in Methanolic Solution as Studied by X-ray Absorption Fine Structure, *J. Solun. Chemi.* **35**, 1645-1654 (2006) 査読有

(21) T. Ohki, M. Harada, T. Okada, Solvation of Ions in Hydrophilic Layer of Polyoxyethylated Nonionic Micelle. Cooperative Approach by Electrophoresis and Ion-transfer Voltammetry, *J. Phys. Chem. B*, **110**, 15486 - 15492 (2006) 査読有

(22) T. Hasegawa, Y. Iiduka, H. Kakuda, T. Okada, Analysis of Structurally Heterogeneous Langmuir-Blodgett Films of Folded/Unfolded Long-Chain Molecules by Infrared Multiple-Angle Incidence Resolution Spectroscopy, *Anal. Chem.* **78**, 6121-6125 (2006) 査読有

(23) Y. Moriya, T. Hasegawa, T. Okada, N. Ogawa, E. Kawai, K. Abe, M. Ogasawara, S. Kato, S. Nakata, Analysis of Gibbs Monolayer Adsorbed at the Toluene/Water Interface by UV-Visible Partial Internal Reflection Spectrometry, *Anal. Chem.* **78**, 7850-7856 (2006) 査読有

[学会発表] (計 13 件)

- ① T. Okada, Water-ice for Developing Novel Analytical Methodology, *HPLC Kyoto 2008*, Dec. 5, 2008, Kyoto
- ② Y. Tasaki, T. Okada, Adsorption/Partition Mode Switching in Ice Chromatography by Utilizing Phase Equilibrium in NaCl- or KCl-Water System, *HPLC Kyoto 2008*, Dec. 3, 2008, Kyoto
- ③ Y. Tasaki, T. Okada, Ice Chromatography. A New Physicochemical Approach to Water-ice Surface, *International Snow Science Workshop Whistler 2008*, Sep. 23, 2008, Whistler, Canada.
- ④ T. Okada, M. Harada, T. Ohki, Hydration of Counterions in Ion-exchange Resin, *Polyelectrolytes* Jun. 19, 2008, Coimbra, Portugal
- ⑤ Y. Tasaki, T. Okada, Ice Chromatography: A Probe of Molecular Interactions on Water-ice Surface and Its Potential in Practical Separation, *8th Csaba Horvath Medal Award Symposium*, Apr. 15, 2008, Innsbruck, Austria.
- ⑥ T. Ohki, M. Harada, T. Okada, Solvation of Ions in Aqueous Hydrophilic Polymer Solutions, *4th International Conference on Ion Exchange ICIE' 07*, Oct. 18, 2007, Chiba
- ⑦ S. Hirawa, T. Okada, Evaluation of

Ion-exchange Reaction by Coupled Acoustic-gravity Field, *4th International Conference on Ion Exchange ICIE' 07*, Oct. 16, 2007, Chiba

- ⑧ Y. Tasaki, T. Okada, Ice Chromatography, *4th International Conference on Ion Exchange ICIE' 07*, Oct. 16, 2007, Chiba
- ⑨ S. Hirawa, T. Okada Acoustic Evaluation of Ion-exchange, *19th International Congress on Acoustics*, Sep. 3 2007, Madrid, Spain
- ⑩ X. Yang, T. Aoki, T. Okada, Separation selectivity of charge-imbalanced zwitterionic stationary phase, *HPLC 2007*. Jun. 19, 2007 Ghent, Belgium
- ⑪ Y. Tasaki, T. Okada, Ice Chromatography, *HPLC 2007*, Jun. 19, 2007 Ghent (Belgium)
- ⑫ T. Aoki, T. Okada, M. Harada, Selectivity in Binding of Anions by Zwitterionic Micelles. *International Symposium on Ion Exchange in Korea and the 22nd Annual Meeting of JAIE*, Seoul, Republic of Korea, Oct. 19, 2006
- ⑬ S. Hirawa, T. Masudo, T. Okada Acoustic Recognition of Counterions in Ion-exchange Resins, *International Symposium on Ion Exchange in Korea and the 22nd Annual Meeting of JAIE*, Seoul, Republic of Korea, Oct. 19, 2006

[図書] (計 3 件)

- ① T. Okada, "Particle Size Separation/Field Flow Fractionation: Electric Fields. In " *Encyclopedia of Separation Science, online update*", Colin F. Poole and Ian D. Wilson, (Editors-in-Chief), pp. 1- 6 Oxford: Elsevier Science Ltd. 2007
- ② 岡田哲男 (分担執筆)、「新しい地平をひらく分析手法の最前線」北森武彦編、pp. 15-20、2009年1月10日、化学同人(京都)
- ③ 岡田哲男 (編集、分担執筆)、「図解 最先端イオン交換技術のすべて」神崎愷 監修、日本イオン交換学会編、pp. 148-151、2009年3月25日、日工業調査会(東京)

[その他]

紹介記事の掲載

- ① 微小な氷を使って分子をわける、「月刊化学 (化学同人)」最新のトピックス・注目の論文(2007年12月).
- ② Ice cold in the lab, *Separations NOW* (<http://www.separationsnow.com>), (2006年6月).
- ③ Cool Separations, *American Chemical Society*

(<http://www.chemistry.org/portal>)
(2006年6月).

- ④Ice Age, *Separations NOW*
(<http://www.separationsnow.com>),
(2009年2月).
- ⑤氷を使って光ファイバー型の分析セルを作る, 日本分析化学会第57年会「展望とトピックス」(2008年 p.17).
- ⑥The Ice Men Cometh, *LCGC Europe*,
(<http://chromatographyonline.finanalytichem.com>), (2009年2月).
- ⑦Lab on Ice, *Chemical Technology*, 6(5), T35 (2009)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡田 哲男 (OKADA TETSUO)
東京工業大学・大学院理工学研究科・教授
20183030

(2) 研究分担者

原田 誠 (HARADA MAKOTO)
東京工業大学・大学院理工学研究科・助教
60313326

(3) 連携研究者

なし