

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年4月16日現在

機関番号：11401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2009～2011

課題番号：21656198

研究課題名（和文）細孔入口径可変型吸着剤の開発とその温度応答性分離システムへの応用

研究課題名（英文）Development of novel adsorbent with adjustable pore entrance size and application to temperature-responsive separation system

研究代表者

村上 賢治 (MURAKAMI KENJI)

秋田大学・工学資源学研究科・准教授

研究者番号：10272030

研究成果の概要（和文）：温度に応じて体積を変化させる高分子を吸着剤の細孔を塞ぐように被覆することで新規吸着剤を開発した。この吸着剤は25℃程度の低温では、溶液のpH変化に対応して分子を吸脱着するが、40℃程度の高温では、分子を全く吸脱着しなくなった。また、この高分子に架橋剤を少量添加することで、分子を吸脱着しなくなる温度を約5℃高温側にずらすことに成功した。これらの知見を活かすことで、新規ドラッグデリバリー用キャリアーや温度勾配クロマトグラフィーへの展開が期待できる。

研究成果の概要（英文）：A novel adsorbent was developed by immobilizing a temperature-responsive polymer (the volume of this polymer changes with changing in the solution temperature) on the external surface of adsorbent. This material adsorbed and desorbed molecules with pH of the solution reversibly at lower temperature of 25°C, while it did not adsorb and desorb molecules independent of pH of the solution at higher temperature of 40°C. Also, it was found this phase-transition temperature shifted by about 5°C to the higher temperature for the adsorbent prepared by the addition of cross-linking agent during the polymer synthesis. From these results, this temperature-responsive adsorbent can be applied to the carrier for drug delivery system and column packing agent for temperature-gradient chromatography.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	0	1,400,000
2010年度	1,200,000	0	1,200,000
2011年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	150,000	3,250,000

研究分野：吸着・イオン交換

科研費の分科・細目：プロセス工学・化工物性・移動操作・単位操作

キーワード：メソポーラスシリカ、感温性高分子、イオン交換、有機無機複合体、ゾルゲル法、分子ふるい

1. 研究開始当初の背景

「新規分子篩い吸着剤」を開発することが本研究の目標である。申請者はこれまで、蛋白質をはじめとする分子量の大きな生化学

関連物質や糖などの天然由来の化学物質を分離・精製する吸着剤の開発を行ってきた(H13-14 若手研究(B), H17-19 若手研究(B))。このようなサイズの大きい分子を吸着させ

るためにはメソポーラスシリカは最適である。なぜなら、この吸着剤は鑄型となる界面活性剤の大きさに応じて細孔径を 20~100 Å の範囲で制御することができ、かつ比表面積が大きいからである。また、細孔径の制御は細孔内壁に有機官能基を付加することによっても可能である。しかしながら、これらの方法では細孔径は数 Å オーダーでしか変化させることが出来ず、分子を精密に篩い分けするためにはこの刻み幅では不十分である。一方、吸着剤としての新たな可能性を有する感温性高分子は外部温度の変化に応じてその体積を変化させる。この体積変化の際に、分子をその網目構造に取り込んで吸着するが、その吸着量は非常に少ないという欠点を持つ。そこで本研究では感温性高分子でメソポーラスシリカを被覆した新規吸着剤を開発することを目的とした。この複合化の狙いは、メソポーラスシリカの持つ吸着容量の大きさを活かしつつ、外部温度変化に伴う高分子の体積変化により細孔入口径を制御し、分子を篩うことにある。

2. 研究の目的

本研究では以下の点を明らかにすることを目的とした。

- (1) メソポーラスシリカ外壁への感温性高分子の固定化法を確立する。
- (2) 複合体の詳細な構造解析を行い、温度と細孔入口径の関係を明らかにする。
- (3) 蛋白質、糖などの吸着特性に及ぼす操作条件（温度、溶液 pH、攪拌時間、濃度/複合体比など）の影響を定量的に明らかにする。
- (4) 複合体を用いた温度応答性分離システムを開発し、その吸着・分離能の評価を行う。

3. 研究の方法

(1) 有機無機複合体の合成法の開発

複合体の合成はラジカル重合反応及びクリック反応の 2 種類の方法で行われた。いずれの場合も複合体合成は次の 4 段階を経て合成された。まず、ラジカル重合法の手順を示す。

① アミノ基修飾シリカ/界面活性剤複合体の合成

臭化セチルトリメチルアンモニウム界面活性剤水溶液中にシリカ源であるオルトケイ酸テトラエチル (TEOS) とアミノ基源である 3-アミノプロピルトリエトキシシランの混合溶液をゆっくりと滴下し、25°C で 1 時間攪拌した。その後、懸濁液を吸引濾過、水洗浄、沈殿物を 60°C で 24 時間乾燥し、アミノ基修飾シリカ/界面活性剤複合体を得た。

② シリカ外表面上へのジメチルアミノ基の固定化

トルエンに 3-ジメチルアミノプロピルジエトキシメチルシランを混合し、その溶液中に前述の複合体を添加し、約 200°C で 4 時間還流しながら攪拌した。その後、懸濁液を吸引濾過、エタノール洗浄、60°C で 24 時間乾燥した。

③ 感温性高分子のラジカル重合およびジメチルアミノ基との反応

蒸留水に *N*-イソプロピルアクリルアミド (NIPAM) を溶解し、その後②で生成した複合体を添加した。10 分の窒素パージ後、ラジカル重合開始剤を懸濁液に加え、30°C で 4 時間攪拌した。その後、生成物を濾過、水洗、60°C で 24 時間乾燥した。

④ 界面活性剤の除去

最後に、シリカ細孔内に存在する界面活性剤をエタノールと塩酸の混合溶液中で 75°C で 1 時間攪拌することによって除去した。この処理後、生成物を吸引濾過、エタノール洗浄し、60°C で 24 時間乾燥し、感温性高分子被覆メソポーラスシリカを得た。

一方、クリック反応法の場合、上述の手順②、③の部分を以下に示すように変更した。

②' シリカ外表面上へのアジド基の固定化

トルエンにクロロプロピルトリエトキシシランを混合し、その溶液中に①で合成した複合体を添加し、約 200°C で 3 時間還流しながら攪拌した。その後、懸濁液を吸引濾過、エタノール洗浄し、60°C で 24 時間乾燥した。この生成物を水と *N*, *N*-ジメチルホルムアミドの混合溶液に加え、更にアジ化ナトリウム水溶液を添加し、25°C で 48 時間攪拌した。この懸濁液も吸引濾過、エタノール洗浄、水洗浄し、60°C で 24 時間乾燥した。

③' アルキニル基末端を有する PNIPAM の合成とアジド基とのクリック反応

NIPAM とメルカプト酢酸を含む水溶液に重合開始剤を加え、窒素パージしながら 25°C で 24 時間攪拌した。透析を 72 時間行った後、4 日間凍結乾燥した。この生成物をジオキサン溶液に懸濁させ、更にプロパルギルアミンを添加した。ジシクロヘキシルカルボジイミドを添加後、25°C で 72 時間攪拌、24 時間の透析、36 時間の凍結乾燥を行い、アルキニル基末端を有する PNIPAM を得た。

この高分子を水に溶解し、②'の生成物を添加し、25°C で 14 日間攪拌した。その後、懸濁液を吸引濾過、エタノール洗浄、水洗浄、60°C で 24 時間乾燥した。

(2) 複合体の構造解析

合成物の構造解析は赤外分光法 (FT-IR)、

X線回折法 (XRD), CHN 元素分析, 熱重量分析 (TG), 窒素吸着, 走査型電子顕微鏡観察 (SEM) を用いて行われた。

(3) 分子吸脱着特性の温度依存性の測定

合成物の陰イオン交換特性を検討するために, 本研究では吸着分子としてメチルオレンジ (MO) を使用した。溶液の温度は恒温槽で制御し, 溶液 pH は塩酸またはアンモニア水の添加によって変化させて, 30 分毎にサンプリングし, MO 吸着量の温度依存性を測定した。MO 吸着量はサンプリング液を UV-Vis 測定することで決定された。

4. 研究成果

(1) ラジカル重合で合成した複合体の構造

① アミノ基及びジメチルアミノ基の定量

CHN 元素分析の結果より, アミノ基量は 0.58 mmol/g であることが分かった。この値は以前の研究で合成されたアミノ基含有メソポーラスシリカ内に含まれるアミノ基量とほぼ等しかった。同じ手法を用いて, ジメチルアミノ基量を定量したところ, 0.23 mmol/g であった。シリカの外表面積が約 $20 \text{ m}^2/\text{g}$ であることから, 1 個のジメチルアミノ基が占める面積は約 15 \AA^2 と計算された。これは一般的なアルキル基の断面積 20 \AA^2 と近いことから, ジメチルアミノ基はメソポーラスシリカ外表面上に密に存在していることが明らかとなった。

② ジメチルアミノ基の固定化による構造への影響

Fig. 1 にジメチルアミノ基を付加する前のシリカ (MS) と付加後のシリカ (LMS) の XRD パターンを示す。

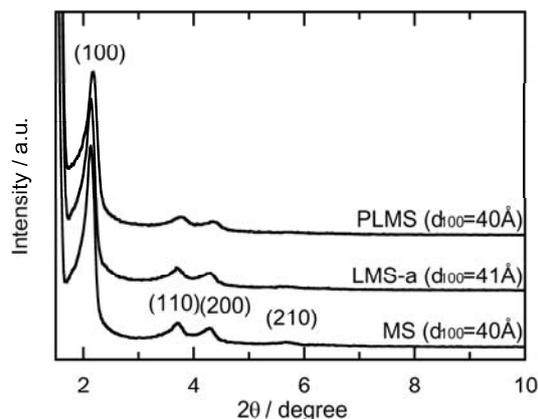


Fig. 1. メソポーラスシリカ (MS), ジメチルアミノ基固定化メソポーラスシリカ (LMS) 及び高分子被覆メソポーラスシリカ (PLMS) の XRD パターン

両試料共に 4 つの回折線が見られ, これらは MCM-41 型のメソポーラスシリカに特徴的な六方晶系に帰属された。ジメチルアミノ基固

定化前後の XRD パターンを比較してみると, ピーク位置及び強度に殆ど違いが認められないことから, ジメチルアミノ基の固定化はシリカの構造に影響しないことが分かった。

Fig. 2 は MS と LMS の FT-IR スペクトルである。LMS 中には 1475 cm^{-1} の $-(\text{CH}_2)_n-$ はさみ振動と 1400 cm^{-1} の C-H 変角振動が小さいながらも観察された。これは少量のジメチルアミノ基がメソポーラスシリカ外表面上に存在していることを示唆している。

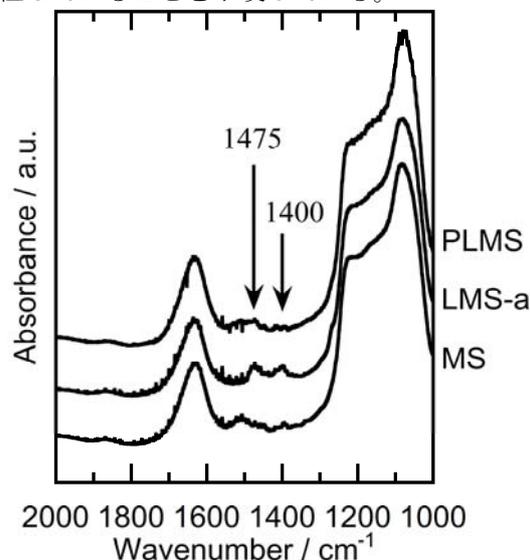


Fig. 2. メソポーラスシリカ (MS), ジメチルアミノ基固定化メソポーラスシリカ (LMS) 及び高分子被覆メソポーラスシリカ (PLMS) の FT-IR スペクトル

③ 感温性高分子被覆メソポーラスシリカの構造

SEM 観察の結果, メソポーラスシリカにポリ (*N*-イソプロピルアクリルアミド) (PNIPAM) を被覆しても, その大きさや形状に変化は認められなかった。Fig. 1 の XRD パターンにも高分子被覆の影響は見られず, Fig. 2 の FT-IR スペクトルからも PNIPAM に特徴的な N-H 変角振動 (1538 cm^{-1}), C=O 伸縮振動 (1650 cm^{-1}) は見られなかった。以上の結果は, PNIPAM はかなり少ない量しか被覆されていないことを示唆している。実際, TG 及び CHN 元素分析の結果からは PNIPAM 被覆量は $0.8 \text{ wt.}\%$ であることが明らかとなった。これはメソポーラスシリカ外表面上に PNIPAM が均一に被覆されていると仮定すると, およそ 2 nm の膜厚に相当する。このような非常に薄い膜状に被覆されているので, SEM, XRD, FT-IR では高分子被覆の証拠が得られなかったと考察された。

(2) クリック反応で合成した複合体の構造

前述のようにラジカル重合では, 感温性高分子被覆量は非常に少なかった。これはラジカル重合がシリカ表面に存在するジメチ

ルアミノ基上よりも、液相中に存在する PNIPAM 上の方が起こり易いためである。本研究では、PNIPAM 被覆量を制御することができると考えられるクリック反応を行うことで PNIPAM 被覆量の制御を試みた (Fig. 3)。その結果、被覆量は仕込み量の増加に伴い単調に増加し、最大で 13 wt.% も被覆できることが分かった。これはクリック反応では、シリカ外表面上に存在するアジド基と PNIPAM 末端に存在するアルキニル基が量論的に反応するためであると考えられた。

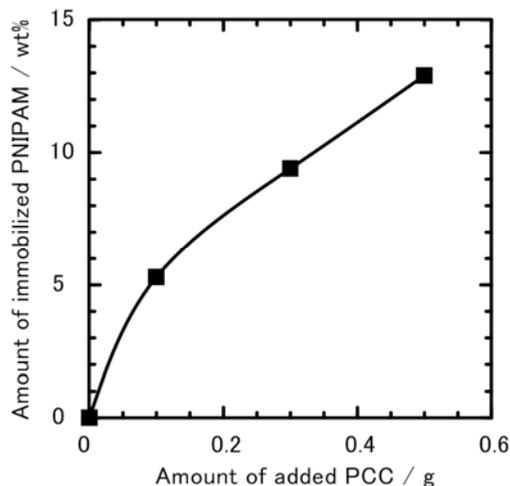


Fig. 3. PNIPAM 仕込み量と固定化量の関係

(3) メチルオレンジ (MO) イオン交換

LMS の 40°C での MO イオン交換量の pH 依存性を Fig. 4 に示す。LMS には感温性高分子が存在しないので、MO 吸着は溶液 pH だけに支配されるはずである。Fig. 4 に示したように MO 吸着量は低 pH では約 0.25 mmol/g に達し、高 pH ではほぼ 0 となった。つまり、予想通り、一般的な陰イオン交換体として作用していることが分かった。

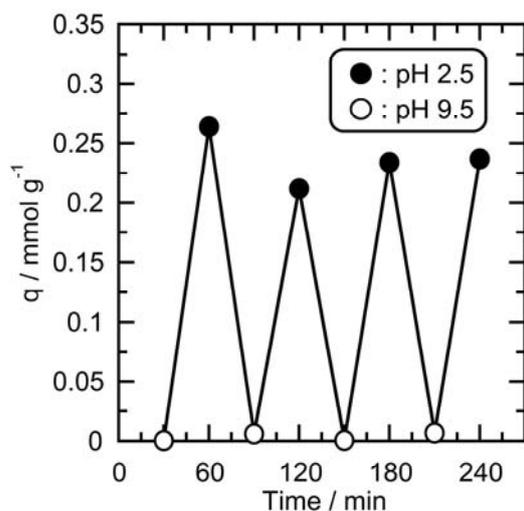


Fig. 4. 40°CにおけるLMSのMO吸着量(q)の溶液pH依存性

一方、PNIPAM を被覆した場合、MO 吸着特性は温度により異なった (Fig. 5)。25°C では LMS と同様に通常の陰イオン交換体として振舞ったが、40°C では MO は pH に関係なく吸脱着しなくなった。これはメソポーラスシリカ外表面上に存在する感温性高分子が吸着サイトである細孔のゲートとして作用していることを示している。即ち、PNIPAM の相転移温度である 32°C を境に低温では、高分子は膨張しており、それが作り出す 3 次元ネットワークの空隙が広がるので (ゲートが開いた状態)、吸着サイトまで自由に分子が入り出ることができる。一方、相転移温度より高温では、高分子は収縮しており、その空隙が狭まるため (ゲートが閉じた状態)、吸着サイトまで分子は到達できない。この現象はクリック反応を用いて高分子を大量に被覆した複合体でも見られた。このように、感温性高分子をメソポーラスシリカに被覆することにより、外部溶液の温度を変えるだけで分子の吸脱着特性を制御することに成功した。

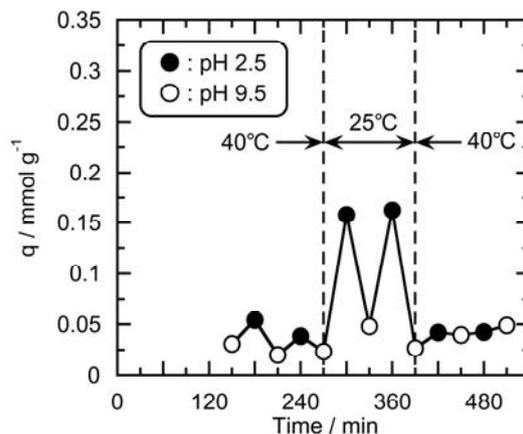


Fig. 5. 25, 40°CにおけるPLMSのMO吸着量(q)の溶液pH依存性

(4) 架橋剤添加による相転移温度の制御

本研究で合成した感温性吸着剤の相転移温度を変化させることは、その後の応用を考えると非常に興味深い。そこで本研究では架橋剤である *N, N'*-メチレンビスアクリルアミド (BIS) を添加することにより、複合体の相転移温度がどのように変化するか検討した。Fig. 6 に溶液温度と MO 吸着量の関係を示す。BIS 無添加試料の場合、相転移温度は 30~35°C の間に存在していることが分かる。BIS を 5 wt.% 添加することにより相転移温度は約 37°C となり、更に 10 wt.% まで添加量を増加させると、相転移温度は 35~40°C の範囲にまで上昇した。このように架橋剤添加量を 10 wt.% まで増加させることにより、相転移温度は約 5°C 高温側にシフトすることが明らかとなった。これは架橋剤を添加することにより、高分子の柔軟性が失われたか、又は親水性・疎水性のバランスが崩れたためと考えら

れた。ここで得られた知見は、この複合体がドラッグデリバリーシステム用キャリアーや温度勾配クロマトグラフィー用カラム充填剤として適用できることを示しており、今後の展開が期待される結果となった。

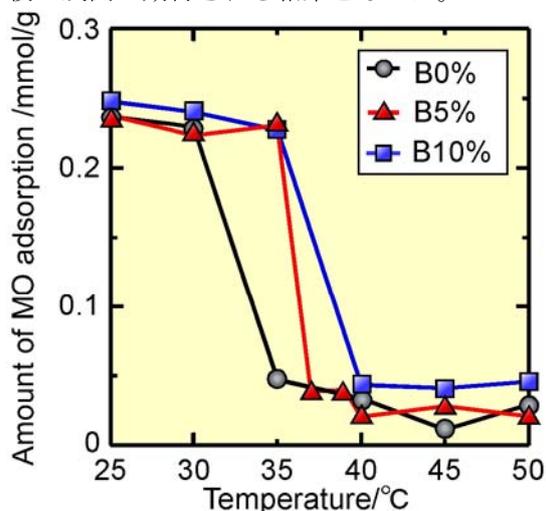


Fig. 6. BIS 添加試料の MO 吸着量と溶液温度の関係

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 2 件)

① K. Murakami, X. Yu, T. Kato, Y. Inoue, and K. Sugawara, “Synthesis of temperature-responsive anion exchanger via click reaction”, J. Colloid and Interface Sci., 査読有, 2012, 印刷中.

② K. Murakami, X. Yu, S. Watanabe, T. Kato, Y. Inoue, and K. Sugawara, “Synthesis of thermosensitive polymer / mesoporous silica composite and its temperature dependence of anion exchange”, J. Colloid and Interface Sci., 査読有, Vol. 354, 2011, 771-776.

[学会発表] (計 5 件)

① 村上賢治, 渡邊真一, 加藤貴宏, 菅原勝康, “感温性高分子被覆メソポーラスシリカのイオン交換特性に及ぼす架橋剤添加の影響”, 平成 23 年度 化学系学協会東北大会, 2011.9.18, 東北大学 (仙台).

② 村上賢治, 渡邊真一, 加藤貴宏, 菅原勝康, “感温性高分子/メソポーラスシリカ複合体のイオン交換特性に及ぼす温度の影響”, 化学工学会 第 43 回秋季大会, 2011.9.15, 名古屋工業大学 (名古屋).

③ K. Murakami, X. Yu, S. Watanabe, T. Kato, Y. Inoue, and K. Sugawara, “Synthesis and Ion-exchange Property of Thermosensitive Polymer / Mesoporous Silica Composite”, 13th

Asia Pacific Confederation of Chemical Engineering Congress, 2010.10.8, Howard International House (台北, 台湾).

④ 村上賢治, 于雪, 加藤貴宏, 菅原勝康, “感温性高分子被覆メソポーラスシリカのイオン交換特性”, 化学工学会 第 42 回秋季大会, 2010.9.7, 同志社大学 (京都).

⑤ 村上賢治, 于雪, 加藤貴宏, 菅原勝康, “感温性高分子被覆メソポーラスシリカの合成とその吸着特性”, 化学工学会 宇都宮大会, 2010.8.19, 宇都宮大学 (宇都宮).

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 感温性吸着剤及びその製造方法
発明者: 村上賢治, 井上幸彦, 菅原勝康, 加藤貴宏

権利者: 秋田大学

種類: 特許

番号: 特願 2010-176475

出願年月日: 2010 年 8 月 5 日

国内外の別: 国内

6. 研究組織

(1)研究代表者

村上 賢治 (MURAKAMI KENJI)

秋田大学・工学資源学研究科・准教授

研究者番号: 10272030

(2)研究分担者

井上 幸彦 (INOUE YUKIHIKO)

秋田大学・工学資源学研究科・講師

研究者番号: 50232567

(H21~H22)