

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	氷マイクロフルイディクス . 氷を用いたサイズチューナブルな分離場の創出と凍結濃縮溶液の物理化学的性質の解明
Title(English)	Ice Microfluidics. Ice as Size-tunable Separation Field and Physicochemical Nature of Freeze Concentrated Solutions
著者(和文)	稲川有徳
Author(English)	Arinori Inagawa
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10723号, 授与年月日:2018年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:岡田 哲男,石谷 治,小松 隆之,西野 智昭,福原 学
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10723号, Conferred date:2018/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

Ice Microfluidics

Ice as Size-tunable Separation Field and Physicochemical Nature of Freeze Concentrated Solutions

稲川有徳 (指導教員: 岡田哲男)

【緒言】水や氷は我々の生活の中で最も身近な物質の一つであるにもかかわらず、その性質には未解明な部分が多い。とりわけ、氷の物理化学的性質の解明は基礎科学だけでなく食品科学、環境科学や生物学においても注目されている。塩や糖などの水溶液を凍結すると、相分離が起き氷結晶と溶質が濃縮された液相(Freeze Concentrated Solution; FCS)が生じる。FCSは氷結晶から完全に排除され、氷の単結晶間のグレインバウンダリー(GB)に存在する。FCS、すなわちGB空間の体積は温度によって可変であり、共晶点近くの温度ではFCSのサイズが数 μm ~数百nmオーダーになる。このような狭い空間に閉じ込められたFCSでは、亜硝酸イオンの酸化反応やエステルの加水分解反応がバルクよりも促進されるという報告例がある。これらの例に限らず、FCS内で起こる特異的な現象に関する報告は多数あるが、FCSの化学的性質やFCSを機能創出などに積極的に用いた研究例はほとんどない。分析化学の観点からFCSの特性を用いることで、これまでになかった分離や計測概念を創出することが可能であると考えた。また、FCSを分析化学的観点から検討することを通じて、特異的な現象のメカニズム解明にも寄与できると考えられる。これらの点を踏まえて、本研究では1)FCSを用いたサイズチューナブルな電気泳動分離場の創出と物質のサイズ分離の実現(氷GB電気泳動)、2)氷GB電気泳動の生体関連物質への適用及び同手法による氷との化学的相互作用の評価、3)氷/FCS界面における氷のゼータ電位、4)氷に囲まれたFCSの粘性率測定とそのサイズ依存性の検討を行った。本研究を通じて、FCSの分析化学的有用性の立証と、氷/FCS界面の理解と洞察を得ることを目指した。ここでは1), 3), 4)について述べる。

【氷グレインバウンダリー電気泳動】スクロースやグリセロールなどの水溶液を凍結させると、チャンネル状のGBが得られる。GBは温度によってその幅を変化させることが可能である。このGBをマイクロチャンネルとして用い、サイズチューナブルな分離場の実現を検討した。大きさの異なる物質をGBに導入し、電気泳動で動かしながらチャンネル幅を狭めていくと、大きな粒子が先にバウンダリー壁面によってトラップされるが、小さい粒子は壁面から影響を受けることなく泳動することができる。このようにしてサイズ分離が可能となる。

実験はペルチェユニットの上に置いた銅製のセル中で行った。セル中でポリスチレン粒子を含むスクロース水溶液を凍結させた。ポリスチレン(PS)粒子はスクロースとともに氷結晶から排除されグレインバウンダリーに自然に注入される。セルに取り付けた銀-塩化銀電極に電圧をかけ、粒子の泳動速度を測定した。

100 mM スクロース水溶液を凍結させてできた GB 中で 3.8, 1.3, 0.59 μm PS 粒子を温度を変化させながら電気泳動させると、-12.0 $^{\circ}\text{C}$ ではすべての粒子が泳動しなかったが、温度上昇に伴い-11.0 $^{\circ}\text{C}$ で 0.59 μm 、-8.0 $^{\circ}\text{C}$ で 1.3 μm 、-2.0 $^{\circ}\text{C}$ で 3.8 μm 各 PS 粒子が泳動を始めた。これは、温度によって GB 幅が変化するために、各温度で氷壁面から大きさの異なる粒子に対する物理的相互作用が異なるためである。一般に電場のみで荷電マイクロ粒子をサイズ分離することは容易ではない。本法では試料の温度を制御することで泳動できる粒子の大きさをコントロールすることが可能であり、氷 GB がサイズ分離に有効な分離場であることを示すことができた。

【氷マイクロチャンネルを用いた氷のゼータ電位測定】 FCS で起こる特異的な化学反応の原因として溶質の凍結濃縮だけではなく、氷/FCS 界面への物質吸着や氷壁面の触媒的作用が挙げられる。物質の静電的吸着を考える上で、氷の表面電位は一つの重要な要素となる。しかし、これまでに発表された手法では安定した氷-水界面を作り出すことができておらず、信頼性の高い測定は行われていない。そこで、安定した氷/FCS 界面での氷のゼータ電位を測定する方法を考案した。すなわち、バルク氷中にマイクロチャンネルを形成しその中を泳動するプローブ粒子の泳動速度から、氷のゼータ電位の決定を検討した。

マイクロチャンネルは 150 μm のキャピラリーを鋳型として超純水とともに凍結し、キャピラリーを引き抜くことで作成した。形成したチャンネル内に表面がカルボキシル修飾された PS 粒子を含む泳動液を注入した。泳動液は測定温度で熱力学的平衡になる濃度のスクロース水溶液とした。チャンネル内におけるプローブ粒子の電気泳動速度と粒子のゼータ電位から、氷チャンネル内の電気浸透流速速度を算出し、氷のゼータ電位求めた。

氷のゼータ電位の値が負の値を示したことから、氷表面は負に帯電していることがわかる。塩濃度が上昇するとゼータ電位の値が抑制される傾向が見られた。陰イオン強度増大に伴う電気二重層の収縮による計算値と比較すると、実験値は計算値ほど高濃度領域で減少しない。これは、陰イオンの氷表面への吸着ないしは氷内への取り込みによるものと考えられる。また、泳動液の pH を変化させてゼータ電位を測定した結果、pH が 3 以下になると急激に小さくなることが分かった。このように、本測定方法で氷のゼータ電位を測定することに成功した。

【氷に囲まれたナノ・マイクロ空間に存在する FCS の粘性率測定】 数 mM のグリセロール水溶液を凍結すると、マイクロ～ナノメートルサイズの FCS が生じる。このような空間では比界面積が大きくなり、物質と界面との相互作用が大きくなることから、溶液はバルクとは異なる性質を示すことが考えられる。例えば、マイクロチップのような小さな空間にある液相の粘性率はバルク状態よりも大きく、空間サイズ依存性があることが報告されている。FCS の粘性率は、氷で囲まれたナノ・マイクロ空間の液相の特徴を表す指標になると考えた。しかし、FCS は氷内部に存在するため、液相を取り出して直接測定することができない。そこで、共存液相にドープしたルテニウム錯体の消光反応速度の測定し、粘性率を算出した。また、蛍光相関分光法(FCor)によって測定した蛍光プローブの拡散速

度から FCS の粘度を測定し、結果の比較を行った。

消光反応速度定数の決定には $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]\text{Cl}_2$ とクエンチャーを含むグリセリン水溶液を凍結して作成したドーブ氷を用いた。蛍光光度計で共存液相内におけるルテニウム錯体の蛍光強度を測定した。共存するクエンチャーの濃度を変化させ、Stern-Volmer Plot を行い錯体の消光反応速度定数を得た。速度定数は粘性率に反比例するため、Debye-Smoluchowsk 式を用いて粘性率を算出した。FCor ではローダミンとグリセリンをドーブした氷で測定を行った。測定は $-4.0\text{ }^\circ\text{C}$ から $-12.0\text{ }^\circ\text{C}$ まで $2\text{ }^\circ\text{C}$ 刻みで行った。

凍結前のグリセロール濃度 c_{ini} が低くなるほど粘性率が大きくなる傾向が見られた。また、FCor による測定においても、氷で囲まれた FCS の粘性率が同じ組成を持つバルクの未凍結溶液よりも大きくなることがわかった。この結果は粘性率の液相サイズ依存性が存在することを表している。氷/液相界面近傍において水分子はマイクロな固液相転移を起こしている。そのため、界面では水分子間の相互作用は強く、界面近傍の液相は相対的にバルク状態よりも水分子が秩序だっていると考えられる。その結果、氷によって囲まれたマイクロ・ナノサイズの FCS の粘性率はバルク状態よりも大きくなっていると推察できる。