

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),<br>学位授与機関:東京工業大学,<br>報告番号:甲第10723号,<br>授与年月日:2018年3月26日,<br>学位の種別:課程博士,<br>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),<br>Conferring organization: Tokyo Institute of Technology,<br>Report number:甲第10723号,<br>Conferred date:2018/3/26,<br>Degree Type:Course doctor,<br>Examiner:,,,, |
| 学位種別(和文)          | 博士論文                                                                                                                                                                                       |
| Category(English) | Doctoral Thesis                                                                                                                                                                            |
| 種別(和文)            | 論文要旨                                                                                                                                                                                       |
| Type(English)     | Summary                                                                                                                                                                                    |

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

|                |       |    |
|----------------|-------|----|
| 専攻:            | 化学    | 専攻 |
| Department of  |       |    |
| 学生氏名:          | 稲川 有徳 |    |
| Student's Name |       |    |

|                           |           |
|---------------------------|-----------|
| 申請学位 (専攻分野):              | 博士 (理学)   |
| Academic Degree Requested | Doctor of |
| 指導教員 (主):                 | 岡田 哲男     |
| Academic Supervisor(main) |           |
| 指導教員 (副):                 |           |
| Academic Supervisor (sub) |           |

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

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、氷の物性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 内の液相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 の幅が数 $\mu\text{m}$ ~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、バルクでは見られない反応特異性が存在することが多数報告されている。しかし FCS の物性が明らかにされていないこともあり、そのメカニズムの解明は進んでいない。その一方で FCS をオフライン濃縮法やクロマトグラフィーなどの分析法へ利用することも検討されてきた。FCS を用いてこれまでにない分離概念を創出することで、FCS の分析化学的な価値を向上させることができる。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。

氷グレインバウンダリー電気泳動法の確立 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。75 mM スクロース水溶液を凍結させると、幅 1  $\mu\text{m}$  程度の GB を調製できることを蛍光顕微鏡で確認した。この GB 中に直径 3  $\mu\text{m}$ 、1  $\mu\text{m}$ 、0.5  $\mu\text{m}$  のポリスチレン粒子を注入し、 $-2.0^{\circ}\text{C}$ ~ $12.0^{\circ}\text{C}$ の温度で電気泳動させた。その結果、温度帯によって泳動する粒子の種類の数異なることが確認できた。これは、GB がサイズチューナブルな分離場として機能することを示している。また、氷グレインバウンダリー電気泳動法を細胞や DNA の分離や、氷と不凍たんぱく質の間に働く相互作用を評価するプラットフォームとしても有効であることを示した。

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、これまでに報告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。氷のゼータ電位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。また pH の上昇に伴うゼータ電位の増大は、氷表面における OH ダングリングボンドの水素が解離し、氷表面に O<sup>-</sup>が生じていることを示唆している。また、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。このことは、電気二重層の収縮だけでなく陰イオンの氷表面への吸着の効果も働いていることがわかった。

氷に囲まれた FCS の粘性率とそのサイズ依存性 ナノ・マイクロ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報告されている。粘性率の上昇はその一つである。そのため、反応特異性がみられる 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。凍結前のグリセロール濃度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。界面において水分子の固液相転移による水を起こしている。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。また、粘性率の上昇がサブマイクロメートルサイズの FCS でも見られたことから、氷/FCS 界面の揺らぎが一般的な固液界面よりも大きいことがわかった。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

## 論文要旨

### THESIS SUMMARY

|                          |       |    |                                            |                 |        |
|--------------------------|-------|----|--------------------------------------------|-----------------|--------|
| 専攻 :<br>Department of    | 化学    | 専攻 | 申請学位 (専攻分野) :<br>Academic Degree Requested | 博士<br>Doctor of | ( 理学 ) |
| 学生氏名 :<br>Student's Name | 稲川 有徳 |    | 指導教員 (主) :<br>Academic Supervisor(main)    | 岡田 哲男           |        |
|                          |       |    | 指導教員 (副) :<br>Academic Supervisor(sub)     |                 |        |

#### 要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words )

At the temperature higher than the eutectic point of a system, a freeze concentrated solution (FCS) coexists with ice in a frozen aqueous solution. Numerous interesting phenomena occurring in the FCS have been reported so far. However, their mechanisms have not been revealed because of unknown physicochemical natures of the FCS. On the other hand, the FCS has been applied to the development of analytical methods such as off-line preconcentration and chromatography. This thesis provides the comprehensive understanding of the nature of the FCS and ice/FCS interface, and shows possibility of the FCS as a novel separation medium.

The primary aim of this thesis is to propose a new separation concept utilizing the specific nature of the FCS. The author developed ice grain boundary electrophoresis, which utilized the size-tunability of the FCS to size-selective separation of substances. The author showed the size-selective identification of the particle mixtures of three different sizes in a single FCS channel by adjusting temperatures, and that FCS channels have a high potential as a platform for the size separation and state-evaluation of bio-materials such as cells and DNA.

Another aim is to reveal physicochemical natures of the FCS and the ice/FCS interface. Ice zeta potential was measured using an ice microchannel fabricated in a bulk ice. The ice surface in contact with the FCS is negatively charged. The surface charges are generated by the deprotonation of OH dangling bonds on the ice surface. The salt concentration dependence of the ice zeta potential suggests us the adsorption of ions.

To discuss the interfacial effect on the physicochemical nature of the FCS, its viscosity was measured by two different spectroscopic methods and its size dependence on the space size is discussed. When the FCS volume decreases, its viscosity increases. Notably, the viscosity enhancement is observed even when the FCS has a micrometer size. This suggests that the fluctuation of the ice/FCS interface strongly affects the FCS nature.

備考 : 論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1copy of 800 Words (English).

注意 : 論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).