

解説・総説

アイスクロマトグラフィー ～氷の物性を利用した分離分析法～

田崎友衣子¹⁾, 岡田 哲 男¹⁾

要 旨

著者らが提唱している氷粒子を吸着担体とする液体クロマトグラフィー, アイスクロマトグラフィーについて述べる. 本法は, 環境調和型の物質分離としての特徴をもつだけでなく, 氷表面-溶質間の相互作用および氷表面の物性へのアプローチにもなり得る. とりわけ, 他法では困難な氷-液体界面をプローブするという点で, 氷表面の解析手段として大きなポテンシャルをもっている. クロマトグラフィーの保持機構としては, 測定条件, 特に温度と移動相特性によって, 水素結合吸着と表面疑似液体層 (QLL) への分配が起こり得る. -3°C 以下では水素結合形成が支配的であり, 吸着の強さの違いに従って混合物を分離することができる. 一方で, 比較的高温の温度領域では QLL への物質の分配が起こる. 温度上昇に伴って QLL が厚くなると, 水素結合吸着よりも QLL への分配が支配的に働く.

キーワード: 氷粒子, クロマトグラフィー, 水素結合吸着, 表面疑似液体層

Key words: ice particles, chromatography, hydrogenbond adsorption, quasi-liquid layer

1. はじめに

地球上に存在する氷は, 多くの自然現象に関与している. たとえば, 不凍タンパクの氷への吸着が氷結晶の成長を抑制するために南極などに生息する魚が凍らないこと (Mao and Ba, 2006), 成層圏におけるオゾンの減少は水を反応媒体とすることによって促進されていること (Fluckiger *et al.*, 2000) などが知られている. このように, 多くの系で氷表面への物質の吸着が起きており, この点で氷は吸着材料の一つであると位置付けることができる. 著者らは, このような氷の吸着特性に着目して, 氷を固定相とするクロマトグラフィー, アイスクロマトグラフィーを提唱している (Tasaki and Okada, 2006, 2008a, 2008b). 氷は究極の環境調和物質であり, 液体の水を種々の条件で利用し, 有害な有機溶媒などの試料を削減しようとする研究は数多く検討されているが (Perchyonok *et al.*, 2008; Vogel *et al.*, 2007), 固体材料としての氷に着目してその物性を積極的に利用しようとする研

究はほとんどない. 以下に述べるように, アイスクロマトグラフィーは, 環境調和型の分離法としての可能性をもつだけでなく, 他の方法ではアプローチが困難な氷表面や氷/液体界面の物理化学的な性質を評価できるという特徴を持つ. 本稿ではその概略と今後の展開の可能性について述べる.

2. クロマトグラフィー

クロマトグラフィーは, 2つの異なる相, 固定相と移動相に対する分子の親和性の差を利用する分離分析法である. 試料物質は, 移動相とともに移動しながら各成分に固有の比率で移動相-固定相間での平衡を保ちながらカラム内を進む. 移動相に液体を用いるものを液体クロマトグラフィー (liquid chromatography; LC) といい, 一般に固定相には固体が用いられる. LC には種々の分離原理が利用可能であり, 吸着, 分配, イオン交換, 分子ふるいなどが一般的である. とりわけ, 吸着と分配は LC の代表的な分離機構であり, 前者ではシリカゲル (SiO_2) やアルミナ (Al_2O_3) などの固定相と比較的極性の小さな移動相の組み合わせ

1) 東京工業大学大学院理工学研究科化学専攻

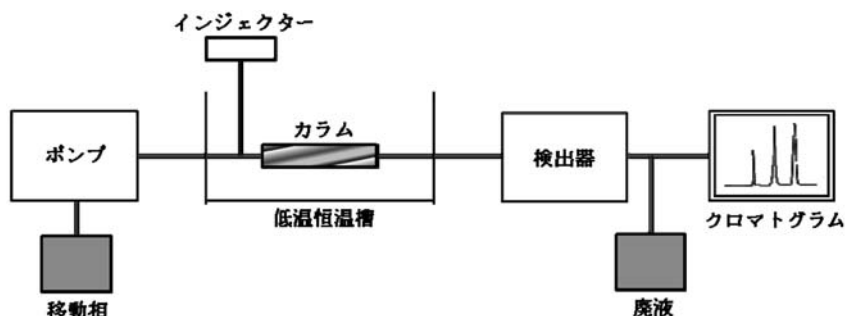


図 1 アイスクロマトグラフィーの装置。

せ、後者ではオクタデシルシランで表面修飾したシリカゲルと極性の大きな移動相の組み合わせで用いられることが多い。

クロマトグラフィーでは、固定相への吸着の強さを議論するために、式(1)で表わされる保持因子 (retention factor) k を用いるのが一般的である。

$$k = (t_R - t_0) / t_0 \quad (1)$$

t_0 は、カラムに全く保持されない物質の溶出時間であり、 t_R は目的物質の保持時間である。固定相と強く相互作用してカラム内に長く滞在する物質は t_R および k が大きい。また、 k は移動相、固定相間の溶質の分配係数 K_d と以下の関係にある。

$$k = (V_m / V_s) K_d \quad (2)$$

ここで、 V_s と V_m はそれぞれカラム中の固定相と移動相の体積である。このように、保持因子から直接分配係数を見積もることできる。

アイスクロマトグラフィーは、氷を固定相として用いるものであり、低温で温度制御の必要がある点で従来の材料に比べると取り扱いが難しいが、分離担体として非常に興味深い。液体クロマトグラフィーの結果は、一般に固定相-移動相液体界面での情報を反映しており、式(2)やそれをさらに発展させた式を用いて適切なデータ解析を行うと、他の方法では得られない界面情報を取り出すことができる。従来の氷に関する研究の多くが、適用可能な方法論の制限によりバルクの氷または氷-気体界面を扱っているのに対して、氷-液体界面についての貴重な情報を与えるという点で、アイスクロマトグラフィーは物理化学的手法

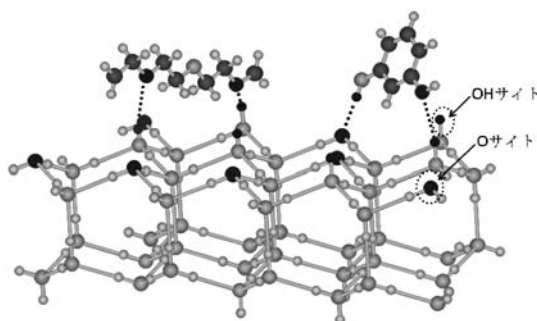


図 2 氷表面の構造と試料との相互作用。大きい球は酸素原子、小さい球は水素原子を表わす。黒い球は、水素結合ネットワークに完全には組み込まれていない原子を表わす。

としてもユニークである。

3. 水素結合形成による氷表面への吸着

氷固定相は、噴霧した水を液体窒素中で凍らせて調製した。氷の形状は、ほぼ球形であることが顕微鏡観察によりわかっている。ふるいを用いて $75\mu\text{m}$ 以下の大きさの水粒子を選別してカラムに詰め、温度を $\pm 0.1^\circ\text{C}$ 以上の精度で制御して実験を行った。アイスクロマトグラフィー測定装置は、概ね従来の液体クロマトグラフィーと同様である(図1)。移動相にはヘキサンにテトラヒドロフラン (THF) またはジエチルエーテル (DEE) を数%混ぜた有機溶媒を用いた。これらはほとんど水と混ざり合わないために、氷固定相の移動相への溶解は無視できる。

バルク氷中の水分子は、酸素原子が4つの水素原子(2つは共有結合性、2つは水素結合性)に囲まれることによってネットワークを形成している。しかし、図2に示すように、表面には水素結合の相手がいないダングリングボンドをもつ酸素

原子および水素原子が存在する。これら 2 種類のダングリングボンドが吸着サイトとして機能するので、以後これらを O サイトおよび OH サイトと呼ぶ。アイスクロマトグラフィーの試料として、ダングリングボンドと水素結合形成が可能であると考えられるエーテル基またはヒドロキシル基を持つ化合物を用いた。図 2 に示すように、前者は氷表面の -OH ダングリングボンドと、後者は -OH ダングリングボンド、-O- ダングリングボンドいずれとも水素結合を形成でき、氷固定相に保持される。

これまでの検討から、明確な保持を得るには、溶質分子が氷表面と 2 つ以上の水素結合を形成する必要があること、エーテル基に比べてヒドロキシル基は氷表面との相互作用が大きいことなどがわかっている (Tasaki and Okada, 2006)。図 3 は、図中に示すポリエーテルの混合物の分離クロマトグラムである。クロマトグラムの最初のピークは全く保持されていない物質のものであり、このピークの出現する時間が式 (1) の t_0 に等しい (つまり $k=0$)。 $n=3, 4, 5$ の化合物が n の大きくなる順に溶出しており、 $n=3$ の化合物には保持に必要な必要最小限の極性基が含まれていることがわかる。極性基を多数含むものであっても、2 カ所での水素結合が主に保持に寄与することがわかっている。したがって、 n が増えることによる保持の増加は、エントロピー効果が主であり、水素結合数の増加、ヒドロキシル基やエーテル基の位置による効果などが副次的に寄与しているものと考えられるが、詳細は明らかにはなっていない。

上述の特徴を利用すると、女性ホルモンであるエストロゲンを分離することもできる。エストロゲンには、図 4 (a) に示すエストロン、エストロジオール、エストリオールの 3 種類がある。アイスクロマトグラフィーを用いると図 4 (b) に示すようにエストロンとエストロジオールを分離することができたが、エストリオールは、この条件では吸着が強すぎるためにカラムから溶出しなかった。図 4 (c) に比較のため市販のシリカゲルカラムを用いたときのエストロゲンの分離クロマトグラムを示す。シリカゲルの表面は -OH を極性の活性サイトとして持っており、氷表面と構造が類

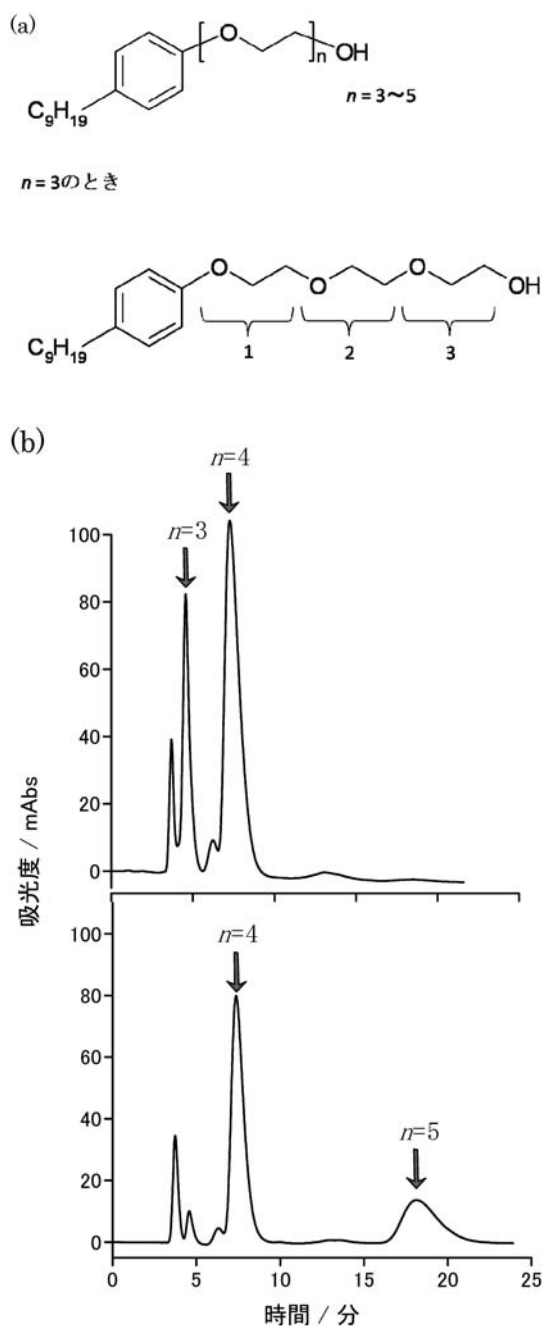


図 3 ポリエーテルの分離. (a) ポリエーテルの構造. [] 内の構造を n 回繰り返す. (b) $n=3$ と 4 および $n=4$ と 5 の分離クロマトグラム. 移動相: 3% THF-ヘキサン, 温度: -7°C .

似している。したがって、氷、シリカゲル共に溶質-固定相間で水素結合形成が起きていると考えられる。そのため、図 4 (b) と (c) のクロマトグ

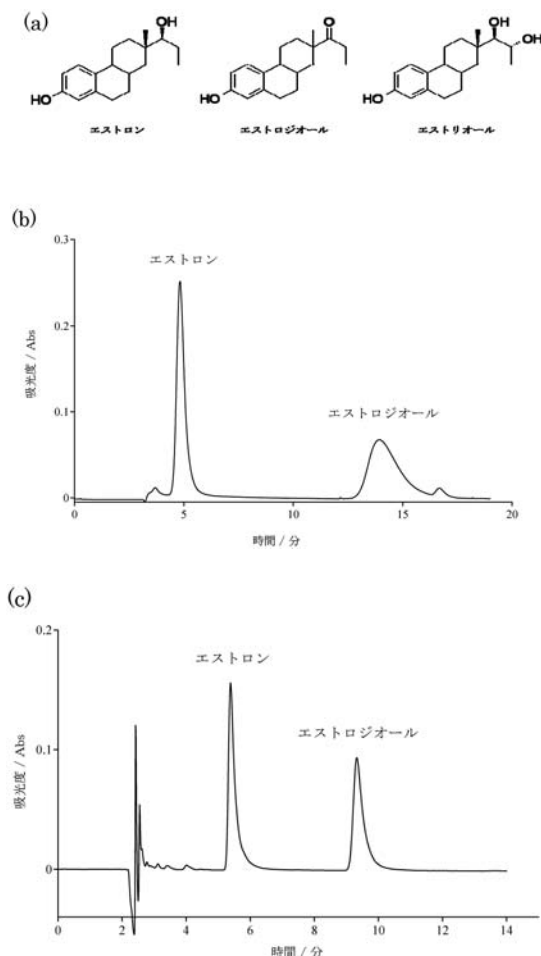


図 4 エストロゲンの分離. (a) 3つのエストロゲンの構造. (b) アイスカラムでの分離. 移動相: 2% THF-ヘキサン, 温度: -4°C . (c) シリカゲルカラムでの分離. 移動相: 20% THF-ヘキサン.

ラフは互いに非常によく似ている. しかし, 2つの物質間の保持因子比 (分離係数 $\alpha = k_2/k_1$) を比較してみると, アイスカラムでは $\alpha = 9.1$ であるのに対し, シリカゲルカラムは $\alpha = 2.3$ である. このことから, シリカゲルよりも氷の方がヒドロキシル基の数を識別する能力が高いことがわかる.

4. 氷表面疑似液体層

0°C 以下の氷は針金で切断することができ, さらに針金通過後には切断面は再凍結する. 復水と呼ばれるこの現象の詳細については解明されていないが, 氷表面に存在する疑似液体層 (quasi liq-

uid layer; QLL) の働きによると考えられている. この液体層は, 水分子の構造が乱れた液体的な膜であると言われている (Ewing, 2004; Li and Somorjai, 2007). 凍上現象や雷発生のメカニズムなどに関与している可能性がある (Dash *et al.*, 2006) だけでなく, 物理化学的にも非常に興味深い現象である. 上述のように, -3°C 以下のアイスクロマトグラフィーにおいては, QLL の存在が無視でき, 物質の水への保持は水素結合による吸着であった. 一方で, 温度が高くなると, 氷粒子表面に QLL が成長することをアイスクロマトグラフィーによって確認することができた (Tasaki and Okada, 2008a). 3% THF-ヘキサンを移動相として用いると, -1.5°C 以上で図 5 に示すように試料の k は顕著な変化を見せる. この結果を QLL の成長と関連づけて考えるとうまく説明することができる. これまで種々の研究によって指摘されているように温度上昇によって QLL は厚くなると考えられる (Dash *et al.*, 2006). QLL が成長すると, 試料は氷表面との水素結合形成による吸着よりもむしろ QLL への分配によって氷固定相に保持される. 温度上昇による QLL の成長は式 (2) の V_s を増加させるので, 保持の急激な変化は QLL の成長を反映していると考えるのが妥当である.

QLL への分配による保持変化は, 溶質の分配特性によって異なる. 図 5 に示す溶質ではジベンゾ 24-クラウン-8 (DB24C8) の保持が温度増加によって減少しているのに対し, 他の溶質の保持は増加している. この違いは, 水/ヘキサン-THF 間での溶質の分配の違いによって説明できる. すなわち, DB24C8 の水/ヘキサン-THF 間の分配係数 $K_d (=C_{\text{water}}/C_{\text{hexane-THF}}$, 式 (2) との整合性を保つため, 通常とは異なり水中での濃度を分母にとった) は他の溶質に比べて 2 桁程度小さく, 水への分配が極端に小さい. したがって, この物質は QLL が成長してもそこにはほとんど分配されず, むしろ氷表面が固体から液体的になることによって水素結合吸着が抑制され, k が小さくなっていると説明することができる. 他の 3 つの溶質は QLL への分配が主な保持機構となり, 温度の増加と共に保持が極端に大きくなる.

QLL の厚さは, -3°C 以上での k の変化分 Δk

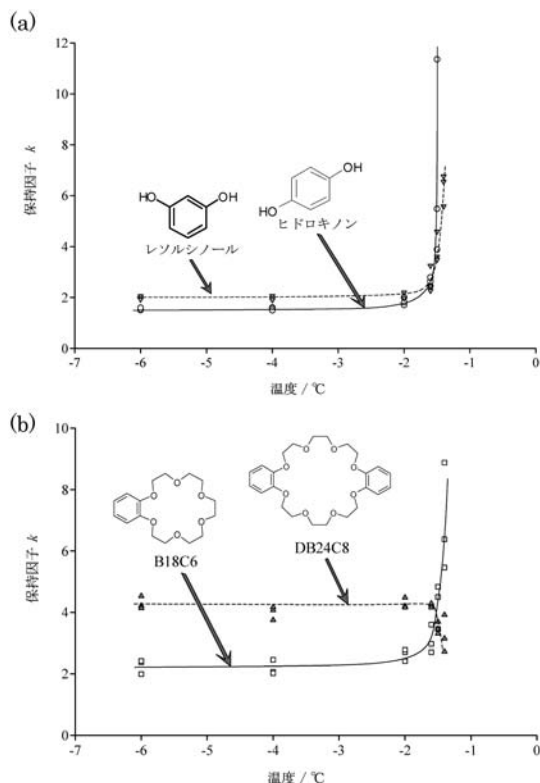


図 5 温度変化に伴う QLL の成長による k の変化. 移動相: 3% THF-ヘキサン.

の値から見積もることができる. Δk は, 疑似液体層の厚さ L と溶質の QLL-移動相間分配係数 K_d に大きく依存する. QLL の溶媒としての特性を通常の水で表せると仮定すると, Δk を以下のように表すことができる.

$$\Delta k = \frac{V_{\text{QLL}}}{V_m} K_d = \frac{L \cdot S}{V_m} K_d \quad (3)$$

V_m は移動相の体積, S は水の表面積である. 本研究で一貫して用いている氷固定相の表面積を窒素 BET 吸着法で求めたところ, カラム当たり $S=12 \text{ m}^2$ であった. この値と, 水/ヘキサン-THF 間の K_d , および Δk の値から図 6 に示す QLL の厚さ L を見積もることができる. L の温度依存性は多くの方法で調べられているが (Doppenschmidt and Butt, 2000; Sadtchenko and Ewing, 2002; Furukawa *et al.*, 1994), 方法や測定計への依存性が大きいためにデータのばらつきが大きいだけ

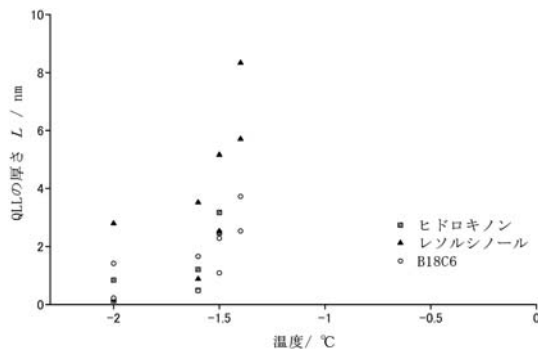


図 6 QLL の厚さの温度依存性. 図 5 の値から見積もった QLL の厚さ.

でなく, QLL と氷との境界線の定義そのものが明確でないために, 単純に数値を比較することはできない. また, アイスクロマトグラフィーでは, 試料が移動相から分配するのに十分な厚みを持っている必要がある. QLL の厚さが分子の大きさに相当するときには適用が難しそうである. 以上のように, QLL の定量的な扱いには克服すべき問題が多いが, 図 6 の結果は他の報告値に比べて温度依存性が高い. 本法で対象としている氷表面は, “液体と接している”. このために, QLL は純粋な水ではなく, 移動相から物質が溶け込んだ一種の混合溶媒である. たとえば, THF よりも水に分配しやすいジオキサンは, QLL の成長を促すのに対し, 水への分配が起こりにくいジエチルエーテルを THF の代わりに用いると, 0°C に近くまで昇温しても QLL の厚さは非常に薄いことがわかっている. 液体に接する QLL は, 氷河流動などの自然現象とも関係していると考えられており (Dash *et al.*, 2006), さらなる解明が期待される.

5. まとめ

氷粒子を固定相とするアイスクロマトグラフィー測定が可能であることを示し, その分離科学的な特徴を明らかにすると共に, 物理化学的に氷/液体界面をプローブするために有用な方法であることを示した. 比較的低い温度領域で, 氷固定相は水素結合による吸着担体として機能するのに対して, ある温度から疑似液体層 QLL が成長を始め, 氷固定相表面は物質を溶かす溶媒的な働

きをする。

氷表面を扱う研究の物理や化学研究の多くは、真空下でのスパッタリングや光プローブを用いており、氷の表面あるいは氷とそれと平衡にある水蒸気界面を取り扱っている。アイスクロマトグラフィーは液体-氷界面を取り扱い、そこでの物質と氷の相互作用についての情報を与える点で他法とは異なる。氷の結晶面による表面特性の違いを利用することや天然の雪や氷を用いる分離なども可能であると考えられ、アイスクロマトグラフィーには種々の展開の可能性を秘めている。また、このような研究を通じて界面での相互作用に関する分子過程についての具体的な描像を得ることで、氷表面の物性や自然界での氷の働きを理解することにもつながるものと考えている。

文 献

- Dash, G.J., Rempel, W.A. and Wettlaufer, S.J., 2006: The physics of premelted ice and its geophysical consequences. *Rev. Mod. Phys.*, **78**, 695-741.
- Doppenschmidt, A. and Butt, J.H., 2000: Measuring the thickness of the liquid-like layer on ice surfaces with atomic force microscopy. *Langmuir*, **16**, 6709-6714.
- Ewing, E.G., 2004: Thin film water. *J. Phys. Chem. B*, **108**, 15953-15961.
- Fluckiger, B., Chaix, L. and Rossi, J.M., 2000: Properties of the HCl/Ice, HBr/Ice, and H₂O/Ice interface at stratospheric temperatures (200K) and its importance for atmospheric heterogeneous reactions. *J. Phys. Chem. A*, **104**, 11739-11750.
- 古川義純・灘 浩樹・石崎武志, 1994: 氷結晶の表面・界面遷移層の構造とその動的性質. *日本結晶成長学会誌*, **21**, S521-S528.
- Li, Y. and Somorjai, A.G., 2007: Surface premelting of ice. *J. Phys. Chem. C*, **111**, 9631-9637.
- Mao, Y. and Ba, Y., 2006: Ice-surface adsorption enhanced colligative effect of antifreeze proteins in ice growth inhibition. *J. Chem. Phys.*, **125**, 091102.
- Perchyonok, T.V., Lykakis, N.I. and Tuck, L.K., 2008: Recent advances in C-H bond formation in aqueous media: a mechanistic perspective. *Green Chem.*, **10**, 153-163.
- Sadtchenko, V. and Ewing, E.G., 2002: Interfacial melting of thin ice films: An infrared study. *J. Chem. Phys.*, **116**, 4686-4697.
- Tasaki, Y. and Okada, T., 2006: Ice chromatography, characterization of water-ice as a chromatographic stationary phase. *Anal. Chem.*, **78**, 4155-4160.
- Tasaki, Y. and Okada T., 2008a: Ice chromatographic characterization of thin liquid layer at the interface between water-ice and organic solvent. *J. Phys. Chem. C*, **112**, 2618-2623.
- Tasaki, Y. and Okada, T. 2008b: Ice chromatography: modification of solute retention on water-ice stationary phase. *J. Chromatogr. A*, **1189**, 72-76.
- Vogel, F., Waldner, H.M., Rouff, A.A. and Rabe, S., 2007: Synthetic natural gas from biomass by catalytic conversion in supercritical water. *Green Chem.*, **9**, 616-619.

Ice chromatography : Tool for molecular separation using physicochemical properties of water-ice

Yuiko TASAKI¹⁾ and Tetsuo OKADA¹⁾

*1) Department of Chemistry, Tokyo Institute of Technology,
2-12-1 Ookayama, Meguro-ku, Tokyo 152-8551*

(2008 年 3 月 7 日受付, 2008 年 4 月 17 日改稿受付, 2008 年 4 月 28 日受理)