

# ソーレー強制レイリー散乱法による拡散係数超高速測定に関する研究 - ポリマー溶液およびタンパク質水溶液への応用 -

80122855 永田利樹 指導教員 長坂雄次

## 1. 緒論

拡散係数は、生体工学、環境工学などの様々な分野の拡散現象の高精度な解析において、その必要性が極めて高い物性値である。中でも、バイオテクノロジーにおいては、医薬品の開発や人工臓器設計、また、宇宙工学の発展に伴う微小重力下におけるタンパク質の結晶精製実験など、生体高分子の拡散係数の需要は高まっている。しかし、拡散係数は輸送物性値の中でも測定が最も困難であり、また従来の方では測定に長時間を要するため、その測定例は乏しい。

したがって、本研究では、超高速(~10ms)で微小領域における拡散係数の非接触測定が可能であり、従来の拡散係数測定法にない特徴をもつソーレー強制レイリー散乱法を信頼性のある新たな拡散係数測定技術として確立し、従来の方法が適用できない系に応用することを目標とした。

## 2. 測定原理および測定装置

加熱用レーザー光(Ar<sup>+</sup>レーザー)をビームスプリッターで等強度の2光束に分割した後、混合液体試料上で交差させ、干渉縞を形成させる。ここで、厚さ0.5mmの石英セルに封入された試料には、加熱光を吸収するように微量の染料が加えられているため、試料中には干渉縞の強度分布に対応した温度分布が形成される。さらに加熱を継続することで、この温度勾配を駆動力としたソーレー効果により、温度分布に対応した濃度分布が形成される。このように試料中には、温度分布及び濃度分布が同時に形成され、これらは回折格子として作用するため、観察光を被加熱領域に照射することで回折光を得ることができる。加熱終了後、温度分布は熱伝導により、濃度分布は物質拡散により均一化していく。温度分布が均一化した後、拡散による濃度分布の均一化に伴う回折光強度の減衰  $I$  は、次のように表される。

$$I \propto \exp(-2t/\tau_D) \quad (1)$$

$I$  の時間変化を光電子増倍管で検出し、拡散の時定数  $\tau_D$  を決定することで、(2)式より拡散係数  $D$  を求めることができる。

$$D = 1/\tau_D (\Lambda/2\pi)^2 \quad (2)$$

本測定法の特徴は以下のようにまとめられる。

- 超高速測定が可能である。(~10ms)
- 拡散係数の濃度依存性が測定できる。
- 微量の試料で測定できる。(1mm<sup>3</sup>)
- 測定試料に対して非接触である。

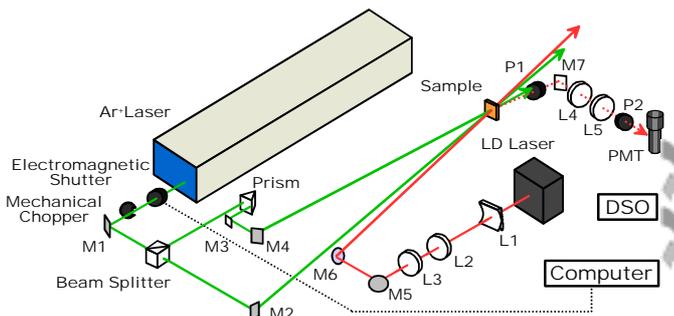


Fig.1 Experimental Apparatus.

## 3. 水溶液系への適用

### ◆ 赤色半導体レーザー(LDレーザー)の導入

高分子水溶液のソーレー係数は、ポリマー溶液と比較して  $10^2 \sim 10^3$  程度小さい。そのため濃度分布による屈折率振幅が減少し、回折光強度が低下することが問題であった。そこで観察光に高出力赤色半導体レーザー(波長 680nm, 出力 740mW)を導入し、回折光強度の向上を図った。この赤色半導体レーザーは、これまで用いていた He-Ne レーザー(波長 632.8nm, 出力 25mW)と比較すると、およそ 30 倍と高出力である。しかし、ビーム径の拡がり角が非常に大きいため、Fig.1 に示すような光学系を設計・導入した。

この装置の健全性の確認として、PS/酢酸エチル溶液を試料に用い、回折光強度の向上とそれによる再現性の向上を確認した。この時の信号波形を Fig.2 に示す。拡散係数は  $6.04 \times 10^{-11} \text{m}^2/\text{s}$  であり、その偏差は  $\pm 2\%$  に収まった。

### ◆ 1 次回折光強度の推算と最適測定条件について

信号光強度が小さくなると予想される水溶液系への適用に際し、本測定法において試料の加熱により形成される濃度格子による 1 次回折光強度を推算した。これにより、観察光に LD レーザーを用いた Albumin 水溶液の信号光強度は、装置改良以前のポリマー溶液の信号光強度と同程度の強度で得ることができることがわかった。また、形成される濃度振幅の大きさは(3)式に、温度振幅の形成速度は(4)式に示される。

$$\Delta C(t, \Lambda) \propto \Lambda^2 \{1 - \exp(-4\pi^2 D t / \Lambda^2)\} \quad (3)$$

$$T = I_h \tau_a / \tau_p C_p \{1 - \exp(-t_h / \tau_a)\} \quad (4)$$

ここで(3)式より、水溶液測定時の測定条件として干渉縞間隔は Bragg 回折限界である  $12\mu\text{m}$  程度まで広げること、(4)式より、水溶液測定時における試料加熱はポリマー溶液の 10ms よりもさらに短時間加熱が適当であるとされた。したがって、水溶液系の加熱には、加熱光の 2ms パルス発生装置としてメカニカルチョッパーを導入した。

## 4. Albumin / NaCl 水溶液の拡散係数測定

測定装置の改良と検討された最適測定条件の導入を行うことで、Albumin/NaCl 水溶液の拡散係数測定を試みた。試料

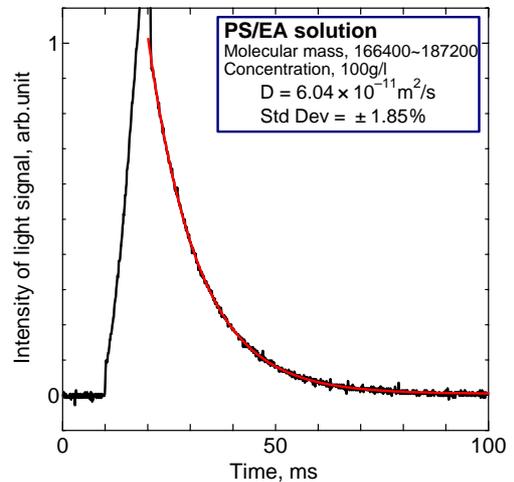


Fig.2 Diffracted Light Signal (PS/Ethyl Acetate Mixture).

には、A-9205 (ALBUMIN, BOVINE 30% solution, 純度 96%) を用いた。また、染料には Eosin Y を試料の 0.1wt% に調整して加えることとした。

◆ 拡散係数の干渉縞間隔依存性

まず、Albumin/NaCl 水溶液を加熱した時に得られた回折光強度の減衰が物質拡散に起因するものかを確認するため、干渉縞間隔を変化させて回折光を検知した。ここで、解析によって得られた拡散の時定数  $\tau_d$  が干渉縞間隔  $\Lambda$  の 2 乗と比例関係であれば(2)式が成立し、検出した回折光強度の減衰が物質拡散に起因していることが確認できる。Albumin/NaCl 水溶液 (濃度 30g/l) を用い、干渉縞間隔を 6.88, 10.10, 11.84 $\mu\text{m}$  と変化させることで得られた拡散の時定数の干渉縞間隔依存性を Fig.3 に示す。干渉縞間隔 11.84 $\mu\text{m}$  ではやや低い値を示したものの、ほぼ比例関係が成立していることがわかる。干渉縞間隔 11.84 $\mu\text{m}$  では回折格子の厚みを評価する Q 値が 10.7 と算出されており、Bragg 回折理論の適用範囲である  $Q \gg 10$  の条件を十分に満たしていなかったためと考えられる。

この結果より、Albumin/NaCl 水溶液の拡散係数を測定できたことが確認でき、また、Bragg 回折の測定条件から干渉縞間隔は 10 $\mu\text{m}$  程度が上限であることがわかった。

◆ 拡散係数の濃度依存性

干渉縞間隔 10.10 $\mu\text{m}$  にて測定された Albumin/NaCl 水溶液の拡散係数の濃度依存性を Fig.4 に示す。ポリマー溶液の拡散係数は濃度に対して正の勾配を示す傾向があるのに対し、逆である負の勾配を持つ傾向を示したが、同じ Albumin/NaCl 水溶液の拡散係数の濃度依存性には、今回の測定と同様の傾向を示す測定例も報告されている<sup>[1]</sup>。なお、この測定のばらつきは  $\pm 7.9 \sim 12.7\%$  であった。

5. エタノール水溶液の拡散係数測定

Albumin/NaCl 水溶液の測定を可能にしたことで、本測定法の水溶液系適用への可能性を示すことができた。次に、ソーレー係数の小さな測定対象として、エタノール水溶液 ( $S_T=0.0057\text{K}^{-1}$ ) を試料に選定し、測定を行った。染料には、Albumin/NaCl 水溶液の測定と同様に Eosin Y を用いた。また、測定条件である干渉縞間隔は 10 $\mu\text{m}$  と設定し、加熱時間はエタノールの温度伝導率が有機溶媒と同程度であることからポリマー溶液の拡散係数測定時と同様の 10ms とした。

本測定によって得られたエタノール水溶液の拡散係数を Fig.5 に示し、従来の研究例による同溶液の拡散係数も比較のために示す。特に濃度 1000g/l のエタノール水溶液においては、測定のばらつきは  $\pm 8.6\%$  であり、同濃度における実測値と比較し約 15% 程低い値となる。これにより、本測定法をソーレー係数の非常に小さな系についても適用可能にすることができ、ソーレー係数の小さな溶液においても本測定法の適用範囲であると示すことができた。

6. 結論

- 高出力 LD レーザーを観察光源に用いた装置を設計・導入し、回折光強度の向上を図った。
- 適切な測定条件を定めることで、生体高分子水溶液である Albumin/NaCl 水溶液の拡散係数測定を本測定法において初めて可能にした。また、その濃度依存性も明らかにした。
- さらに、ソーレー係数の小さな溶液であるエタノール水溶液においても、拡散係数を測定することを可能にした。
- ソーレー強制レイリー散乱法の適用範囲を広げることにより、さらなる測定対象への本測定法適用の可能性を示すと共に、本測定法によるタンパク質結晶精製過程の拡散係数動的測定法への応用などの発展性を示すことができた。

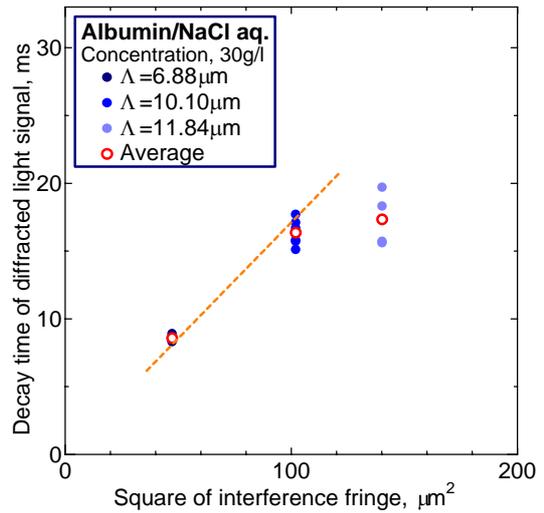


Fig.3 Interference Fringe Space Dependence of Decay Time (Albumin/NaCl Aqueous Solution).

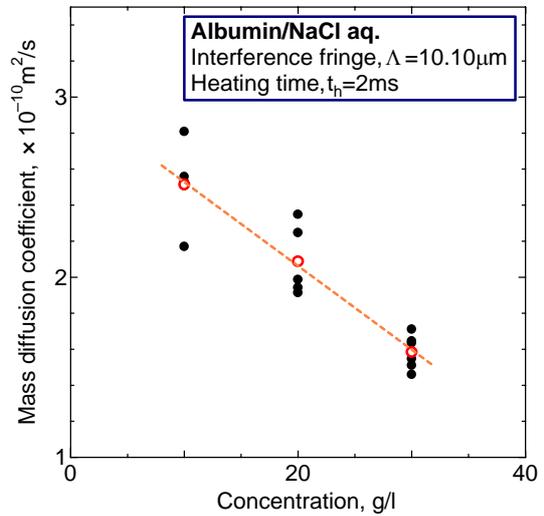


Fig.4 Concentration Dependence of Mass Diffusion Coefficient (Albumin/NaCl Aqueous Solution).

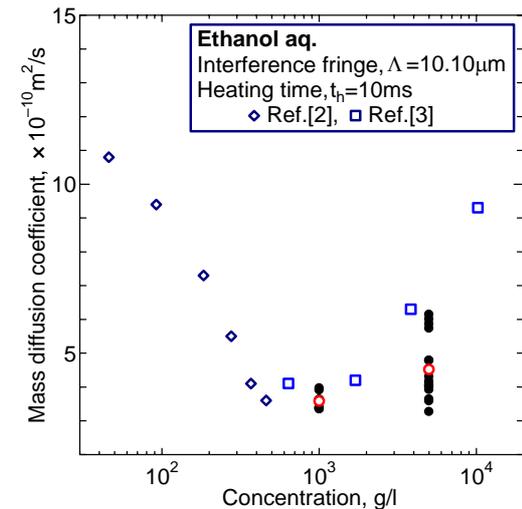


Fig.5 Mass Diffusion Coefficient of Ethanol Aqueous Solution.

参考文献

[1] M.Placidi and S.Cannistraro, *Europhys. Lett.*, **43-4** (1998) 476.  
 [2] 日本化学学会, 化学便覧, 丸善 (1993).  
 [3] 熱物性ハンドブック編集委員会, 熱物性ハンドブック, 養賢堂 (1990).