

## 総合論文

# シリカモノリスカラムの分析化学的活用に関する研究

陳 子林<sup>①</sup>, 張 學嘉<sup>1</sup>, 保母 敏行<sup>2</sup>

## Application of Monolithic Silica for Microfluidic Analysis

Zilin CHEN<sup>1</sup>, Hsueh-Chia CHANG<sup>1</sup> and Toshiyuki HOBO<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Center for Micro-fluidics and Medical Diagnostics, Department of Chemical and Biomolecular Engineering, University of Notre Dame, Notre Dame, IN 46556, USA

<sup>2</sup> Department of Applied Chemistry, Graduate School of Engineering, Tokyo Metropolitan University, 1-1, Minami-ohsawa, Hachioji-shi, Tokyo 192-0397

(Received 21 February 2005, Accepted 18 April 2005)

It has been known that monolithic porous silica possesses the morphology of a continuous skeleton, micro-scaled through-pore and nano-scaled meso-pore on the skeleton. It is its unique morphology that shows great promise for applications in the fields of analytical chemistry. This paper describes advances in successful applications of monolithic silica to analytical chemistry, achieved in authors' groups. The authors focused their work on three main subjects regarding monolithic silica: (i) a chemically modified monolithic silica column for chiral separation in capillary electrochromatography and micro-liquid chromatography, (ii) a monolithic enzyme reactor integrated with a biosensor for continuous monitoring (bimolecules), and (iii) an electroosmotic micropump for micro flow analysis and electrospraying.

**Keywords :** chiral separation; monolithic column; capillary electrochromatography; micro-liquid chromatography; biosensor; enzyme reactor; micropump; flow injection analysis; electrospray.

## 1 緒 言

近年分析化学における micro total analytical system ( $\mu$ -TAS) と称される超小型分析装置の実現を目指す研究が注目を集めている。理想的には微少な試料や溶媒を用い、試料の前処理から抽出、反応、分離及び検出に至るまでのすべての分析、操作過程を 1 枚の微小な基板（マイクロチップ）上で行うことが期待されている。一方、 $\mu$ -TAS の研究が進むにつれ、内径数十～数百  $\mu\text{m}$  のキャピラリーを用い、抽出、濃縮、分離及び検出などを行う研究も盛んになってきた。そこで、キャピラリーガスクロマトグラフィー (CGC)、キャピラリー液体クロマトグラフィー (CLC)

あるいはマイクロ液体クロマトグラフィー ( $\mu$ -LC)、キャピラリー電気泳動 (CE)、キャピラリー電気クロマトグラフィー (CEC) などいろいろな新しい分離手法による高性能分離の研究報告が多く見られるようになってきている。今後、これらキャピラリーを利用した分離分析法の発展のためには新しい分子認識材料や新しいカラム技術などの研究が必要とされるものと考えられる。

新しい分析用媒体としてモノリスは、近年、分析化学の分野、特にクロマトグラフィーにおける利用が図られている。本論文において議論するモノリスは、キャピラリーの中に重合反応で形成させた連続的な骨格と流路を一体化し、ミクロサイズの貫通孔を有するマトリックスである。モノリスは重合反応に使うモノマーの組成によって、主に有機ポリマーモノリスとシリカモノリスとに分類されている。Frechet らをはじめ多くの研究者は有機ポリマーモノリスの研究を報告している<sup>1)~5)</sup>。田中らをはじめ幾つかの

<sup>1</sup> Center for Micro-fluidics and Medical Diagnostics Department of Chemical and Biomolecular Engineering, University of Notre Dame: Notre Dame, IN 46556, USA

<sup>2</sup> 東京都立大学大学院工学研究科応用化学専攻: 192-0397 東京都八王子市南大沢 1-1

研究グループはシリカ系モノリスの開発及び応用を行った<sup>6)~10)</sup>。クロマトグラフィーにおけるモノリスの利用に関する研究の動向は最近の総説<sup>11)~15)</sup>に詳しい。

最近モノリスは分離カラムに使うだけではなく、マイクロチップ、抽出、リアクター及びマイクロポンプへ応用した報告も多く見られるようになってきている<sup>16)~20)</sup>。本論文では、近年著者らが分析化学における利用を検討した、1) ポーラスシリカモノリスを用い、化学修飾したキラルモノリスカラムの開発と CEC 及び  $\mu$ -LC への応用<sup>21)~28)</sup>、2) 酵素を固定化したリアクターの開発と生体分子の連続的なモニタリングへの応用、並びに 3) 高圧を生じられる電気浸透流ポンプ (EOP) の開発とフローインジェクション分析 (FIA) 及びエレクトロスプレー (ES) への応用を中心概説する。

## 2 実験

### 2・1 装置及び試薬

各種装置系は次の機器類を使って組み立てた。すなわち、CEC 装置には、高圧電源 HCZE-30PNONO25-LD (松定プレシジョン製), CE-1570UV 紫外可視吸収検出器 (日本分光製) を用いた。データ処理には、C-R7A plus 及び C-R4A クロマトパック (島津製) を用いた。高速液体クロマトグラフィー (HPLC) における送液には LC-10ADvp 型及び LC-9A 型ポンプ (島津製)、及び MP680 型マイクロフローポンプ (GL サイエンス製) を用いた。また、試料導入には 0.2  $\mu$ l のループを備えた 7520 型インジェクター (レオダイン製) を用いた。検出器その他は CEC 装置と同様のものを使用した。電気化学測定には BAS 社 (米国) の LC-EC 用ポテンショスタットとクロマトグラフ用インターフェイス (DA-5) 及び ChromGraph ソフトウェア付きコンピュータを用いた。モノリスの合成で利用するゾル-ゲル法の操作におけるキャピラリーカラムの乾燥には温度プログラム機能を有するガスクロマトグラフ GC-17A 型 (島津製) のオーブンを用いた。モノリスカラム調製のためのキャピラリーには溶融シリカキャピラリー (内径 100  $\mu$ m, 外径 375  $\mu$ m) (GL サイエンス製) を用いた。

すべての試薬は市販特級品を用いた。移動相又は泳動液には 0.45  $\mu$ m の膜で済過した後、超音浴で脱気したものを用いた。使用する水はミリポア製 Mili-Q にて精製した超純水を用いた。

### 2・2 モノリスシリカカラムの調製と修飾

モノリスシリカカラムの調製はキャピラリー内でテトラメトキシシラン (TMOS) をポリエチレングリコール共存下で加水分解-重縮合させる、ゾル-ゲル法により行った。キラルモノリスカラムの作製はモノリスシリカカラムにスペーサーを結合させ、更にこのスペーサーに化学的にキラ

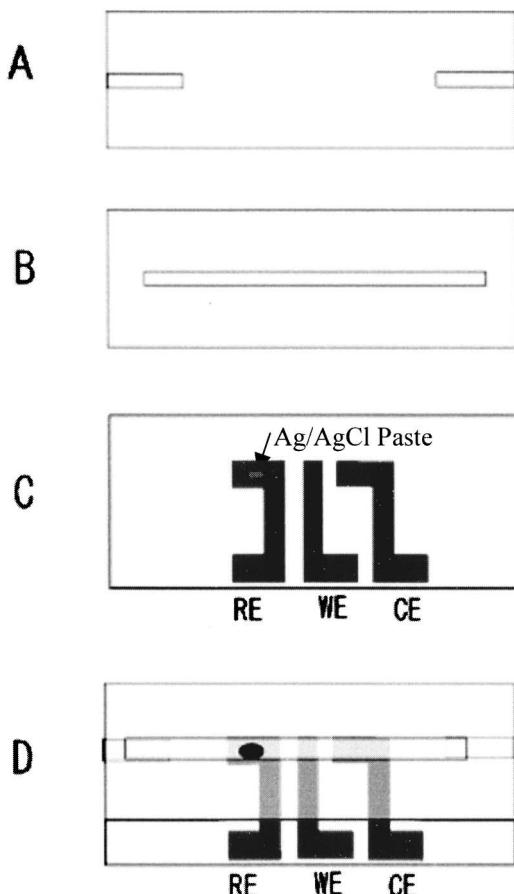


Fig. 1 Schematic micro sensor

A) Glass cover with 400  $\mu$ m in width  $\times$  400  $\mu$ m in depth channels at both sides; B) PTT tape spacer (50  $\mu$ m thickness) with 1 mm  $\times$  17 mm channel at the center; C) Sensor substrate (25 mm  $\times$  15 mm) with 3 carbon film electrodes; D) integrated micro-chip sensor

ルセレクターを結合させる手法を用いた。

アスコルビン酸除去用モノリスリアクターは、PBS (phosphate-buffered saline) 緩衝液に溶かしたアスコルビン酸酸化酵素をモノリスの表面に物理吸着を利用して固定化することにより作製した。尿酸除去用リアクターはウリカーゼとカタラーゼ混合酵素溶液を修飾して化学共有結合的に酵素を固定した。

### 2・3 センサーの試作

Fig. 1 に示すように、センサー (Fig. 1D) は 2 枚のガラス基板 (Fig. 1A, C) をはり合わせた構造をしており、一方の基板 (Fig. 1C) (25  $\times$  15 mm) にはカーボン薄膜電極を、もう一方の基板 (22  $\times$  10 mm) (Fig. 1A) には、キャピラリーを接続するための溝 (400  $\mu$ m 深さと 400  $\mu$ m 幅) を形成した。電極 (Fig. 1C) は蒸着法によりカーボン薄膜を形成した後に、電極部とパッド部とをフォトレジストを用いてパターニングした後、酸素プラズマでエッチ

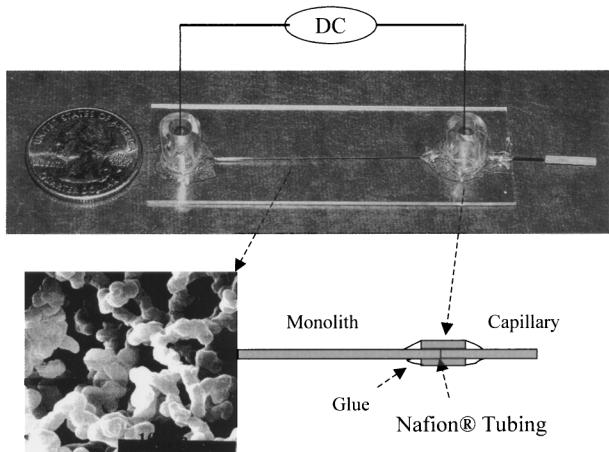


Fig. 2 Images of monolithic electroosmotic micropump and SEM of monolith with a magnification of 5000

ングして作製した。作用電極面積は  $1 \times 1$  mm, 電極の距離は 0.5 mm であった。薄膜電極のうちの 1 つに、銀ペーストを塗布して参照電極とした。 $1 \times 17$  mm の溝を有するデュウマウト PTT 25 (キモト社製) 両面テープ ( $22 \times 10$  mm, 厚さ 50  $\mu\text{m}$ ) (Fig. 1B) を用いて 2 つの基板をはり合わせ、モノリスリニアクターへの接続用及び液排出用のキャピラリーを接続した。

#### 2・4 モノリス電気浸透流ポンプの試作

Fig. 2 に示すように、モノリス電気浸透流ポンプの作製にはナフィオン管で 6 cm のモノリスシリカカラムと 3 cm のキャピラリーを連結し、粘着剤で液を漏れないよう密封した後にガラス基盤 ( $2.5 \times 7.5$  cm) の上に固定した。二つのポリ塩化ビニル管を液だめとし、モノリスの両端に接着剤で固定した。

### 3 ゾル-ゲル法と化学修飾法を用いたキラルモノリスカラムの開発及び CEC と $\mu$ -LC によるキラル分離への応用<sup>21)~28)</sup>

アミノ酸、糖をはじめとする生命化学、液晶をはじめとする化学工業においても、光学異性体の分離に大きな関心が持たれている<sup>29)</sup>。光学異性体間でその機能が著しく異なる例が多数報告されていることからも、その分離分析法が重要であることが分かる。従来光学異性体の分離分析には各種クロマトグラフィーの利用が盛んであるが、近年  $\mu$ -LC, CE, CEC による研究報告例が多く見られるようになってきている。新しい分子認識材料、新規な分離モード、新しいカラム技術などの研究が注目を集めている<sup>30)</sup>。

CEC の研究が進むにつれ、中空カラム (OTC) や充填カラムではない新たな種類のカラムが必要となってきた。

OTC は内表面積が小さいため、注入できる試料量（負荷容量）が少ない。また充填カラムではフリットの作製やカラムの充填が困難であり、電圧印加時にフリットとその周辺に気泡がよく生じるため、CEC を行えなくなる問題がある。一方、固定相骨格と流路が一体になったモノリスカラムでは表面積が大きいため、試料の負荷容量が大きく、フリットの作製やカラム充填の操作が不要である。更に、分離能も高いという利点もあるため、モノリスカラムがクロマトグラフィー分野の興味深い研究テーマとなっている<sup>31)</sup>。

著者らは、従来、配位子交換現象とミセル動電クロマトグラフィーの優れた点を組み合わせて、光学異性体の分離能の優れた、配位子交換-ミセル動電クロマトグラフィーを開発した<sup>32)~39)</sup>。この手法によれば、例えば、Fig. 3 に示しているように、トリプロファン誘導体の位置異性体と光学異性体 16 種類を同時分離可能であった<sup>33)</sup>。ところが、この際、バックグラウンド電解質の中に錯形成用に配位子、及び銅イオンを存在させて、絶えず十分補給していくなければならないという弱点があった。そこで、錯体を固定相としてカラム中に存在させることにより、この点を改善する手法を検討した。その結果、モノリスカラムを配位子で修飾し、配位子交換機構で試料光学異性体を分離できる手法を開発した。以後、著者らは CEC 及び  $\mu$ -LC に適用するキラルモノリスカラムの開発を目指し、ゾル-ゲル法と化学修飾法を併せ用い、キラルカラムの開発・研究を行ってきた<sup>40)</sup>。

Fig. 4 に合成したモノリスシリカカラムの走査電子顕微鏡 (SEM) 写真を示す<sup>25)</sup>。A にはモノリスマトリックスのキャピラリー内の様子を、B には数  $\mu\text{m}$  の貫通孔の存在を示している。Fig. 4 により、モノリスは流路と骨格を一体化し、ミクロサイズの貫通孔及び骨格の表面にナノサイズの細孔を有し、優れた分離媒体であると考えられる。

Fig. 5 に著者らが開発したキラルモノリス固定相の化学構造を示している<sup>32)</sup>。上方は五つのアミノ酸アミドとアミノ酸をキラルセレクターとする配位子交換型キラル固定相であり、下方はシクロデキストリン固定化ホスト-ゲスト型のキラル固定相の化学構造である。これらの配位子交換型モノリスカラムを用い、CEC<sup>21)22)24)~28)</sup> 及び  $\mu$ -LC<sup>23)24)</sup> に応用し、アミノ酸<sup>21)~28)</sup>、ヒドロキシ酸<sup>22)23)</sup> 及び小さなペチド<sup>28)</sup>などの生命科学的に重要な光学異性体の分離に適用することができた。更に CEC に適用するために、電気浸透流の特性及びキラル選択性を検討した。その結果、固定相に正電荷を持つ銅の錯体を形成させて利用したため、アミノ酸アミドとアミノ酸をキラルセレクターとしたときに、電気浸透流は陰極から陽極へ流れることが分かった。L-アミノ酸アミドをキラルセレクターとした場合、アミノ基又は形成される銅錯体の電荷の影響により、アミノ酸を

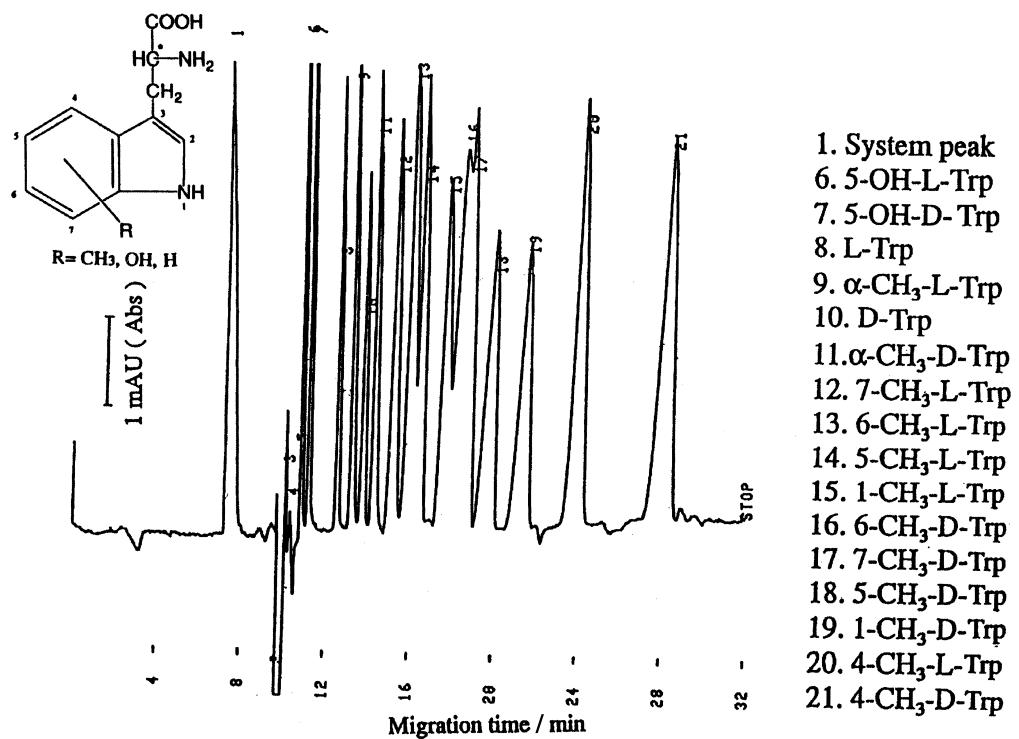


Fig. 3 Simultaneous separation of 16 positional enantiomers of tryptophan derivatives by ligand exchange-micellar electrokinetic chromatography

Electrolyte: 25 mM Cu(II), 50 mM L-hydroxyproline and 10 mM SDS at pH 5.2; Applied voltage: 10 kV; Fused silica capillary: 40 cm effective length, 55 cm total length, 50  $\mu$ m i.d. and 375  $\mu$ m o.d.; UV detection: 208 nm (From Ref. 33)

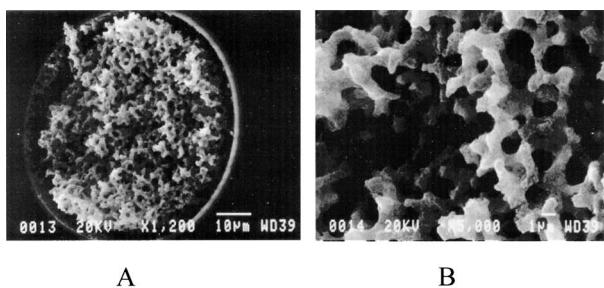
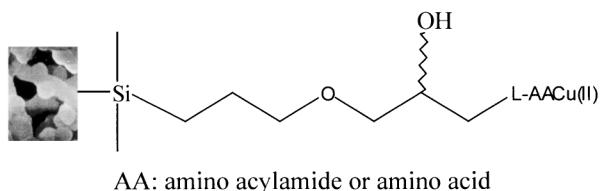


Fig. 4 SEM photographs of sol-gel monolithic column: 20 kV, WD 39, and magnification (A) 1200 $\times$ , (B) 5000 $\times$  (From Ref. 25)

キラルセレクターとした場合よりも強い電気浸透流を生じることが分かった。また、CECによる分離におけるキラル選択性については、キラルセレクターの種類によって異なることが分かった。例えば、フェニルアラニンアミド(L-PheA)をキラルセレクターとすると、ダンシリアミノ酸(Dns-AA)にはキラル選択性を持つこと、また、プロリンアミド(L-ProA)をキラルセレクターとするとヒドロキシ酸とアミノ酸両方をキラル認識することができた。更に、L-ヒドロキシプロリンをセレクターとすると、アミノ酸のほか、ペプチドもキラル認識できた。



- LE-CSP1: AA=L-phenylalaninamide
- LE-CSP2: AA=L-alaninamide
- LE-CSP3: AA=L-prolinamide
- LE-CSP4: AA=L-lysinamide
- LE-CSP5: AA=L-hydroxyproline

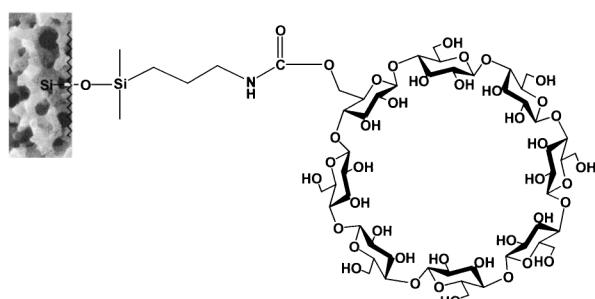
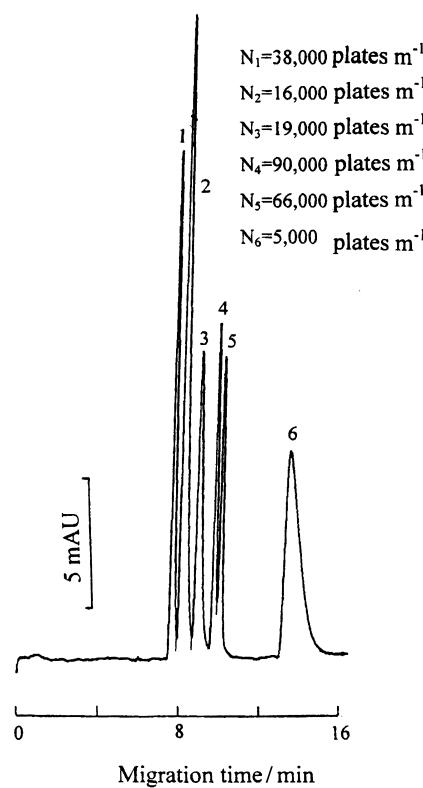


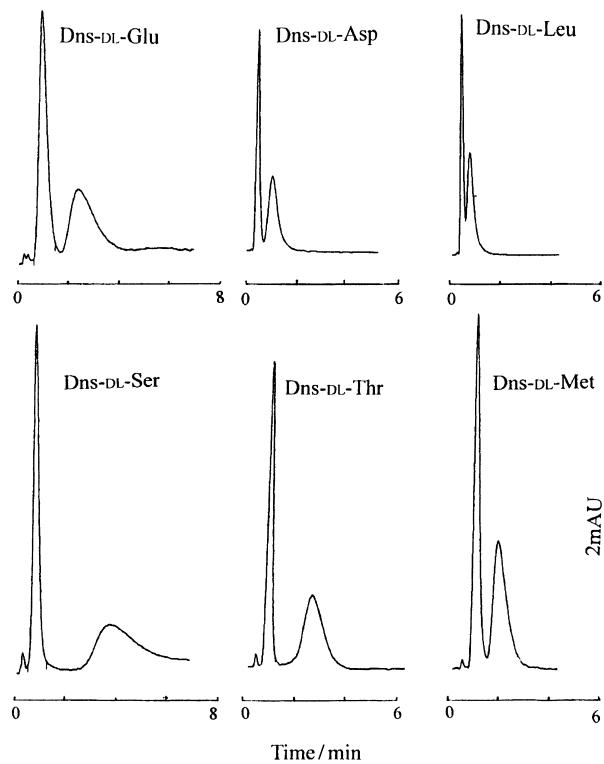
Fig. 5 Chemical structures of monolithic LE-CSPs (top) and  $\gamma$ -CD-CSPs (bottom)



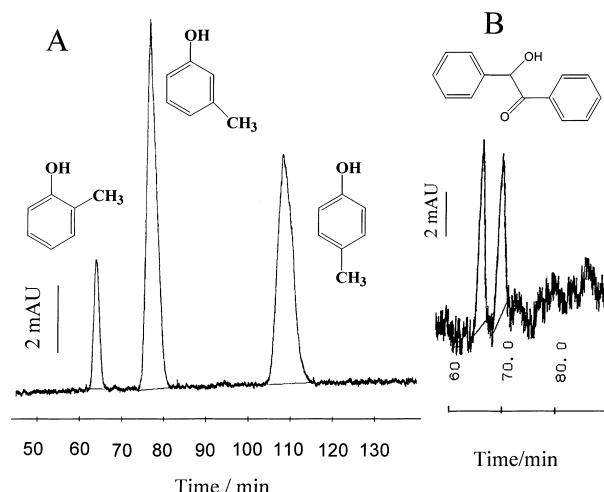
**Fig. 6** Electropherographic separation of a mixture containing six enantiomers of dansyl amino acids  
Peak identification—1: Dns-d-Thr, 2: Dns-d-Ser, 3: Dns-L-Thr, 4: Dns-d-Leu, 5: Dns-L-Leu, 6: Dns-L-Ser;  
Column: L-PheA-modified monolithic column (TL 35 cm, EL 26.5 cm; i.d. 100  $\mu$ m, o.d. 375  $\mu$ m); Mobile phase: pH 5.5 acetonitrile/0.50 mM Cu(Ac)<sub>2</sub> - 50 mM NH<sub>4</sub>Ac (7 : 3); Applied electric field strength: -300 V/cm; UV detection 254 nm; electrokinetic injection 3~5 s (From Ref. 21)

Fig. 6 には CEC による 6 種のダンシルアミノ酸光学異性体の分離例を示した。Fig. 6 に示すように、理論段数 9 万段の分離能を達成することができた。これは配位子交換クロマトグラフィーの 30 数年にわたる発展史上の最高記録となった<sup>21)</sup>。Fig. 7 には L-Phe 修飾モノリスカラムを用いた  $\mu$ -LC によるダンシルアミノ酸の分離例を示す。多くのアミノ酸光学異性体の完全分離を実現した<sup>23)</sup>。これらの結果から、モノリスカラムは CEC への応用だけではなく、 $\mu$ -LC にも理想的な分離媒体であると考えられる。

また、この手法を利用して、シクロデキストリンを固定化したホスト-ゲスト型のキラルモノリスカラムの開発にも成功し、CEC によるアミノ酸光学異性体、ベンゾイン光学異性体、芳香族の位置異性体の高性能な分離を実現した<sup>25)26)</sup>。Fig. 8 には  $\beta$ -シクロデキストリンを固定化したモノリスカラムを用い、芳香族の位置異性体及びベンゾイン光学異性体の分離をしたエクトロクロマトグラム例を示す。

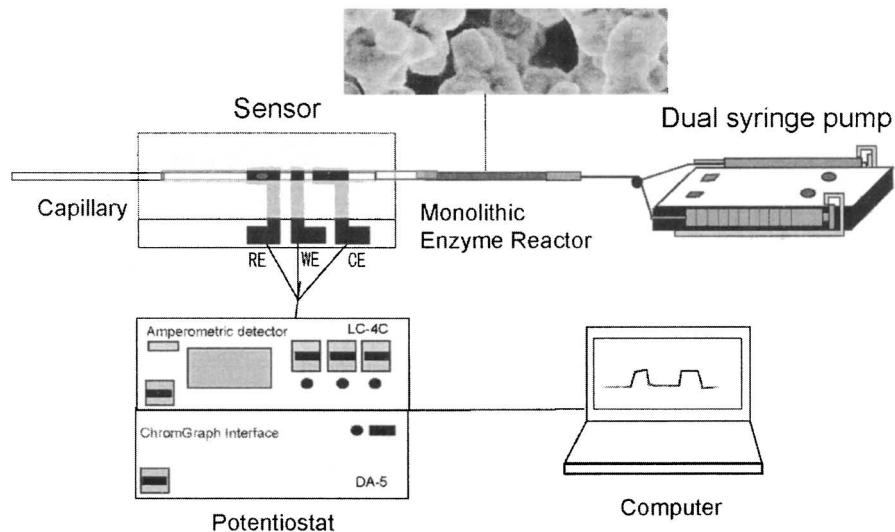


**Fig. 7** Representative chromatograms for resolving Dns-DL-AAs on monolithic L-PheA CSP by LC  
Monolithic CSP: 32 cm; Mobile phase: pH 7.6, acetonitrile/0.1 M NH<sub>4</sub>Ac - 0.25 mM Cu(Ac)<sub>2</sub> (7 : 3); Flow rate: 20  $\mu$ l/min; Injection volume 0.2  $\mu$ l (From Ref.23)



**Fig. 8** Electropherographic separation of positional isomers of *o*-, *m*-, and *p*-cresols (A) and benzoin racemate (B) on monolithic  $\beta$ -CD CSP (45 cm EL, 57 cm TL)

Mobile phase: 50 mM phosphate buffer (pH 7.5)/methanol (80/20); Applied voltage: 12 kV; Current: 80  $\mu$ A (From Ref. 25)



**Fig. 9** Schematic experimental system integrated with a monolithic enzyme reactor and micro-sensor for monitoring catecholamines (From Ref.41)

更に、 $\gamma$ -シクロデキストリン ( $\gamma$ -CD) 固定化モノリスカラムを用い、CECによるダンシルアミノ酸の分離挙動について検討を行った<sup>26)</sup>。メタノール、アセトニトリル及びテトラヒドロフランを有機モディファイヤーとし、移動相の種類や組成の違いによる分離挙動の変化について検討を行った。適度な有機溶媒の添加により、ダンシルアミノ酸と  $\gamma$ -CDとのホスト-ゲスト相互作用を制御でき、これによりキラル分離選択性を調節することができた。また、温度による分離挙動の変化を検討し、得られた結果を熱力学の視点から解析することにより、低温ほどエンタルピー効果が優勢となり、キラル認識能が高まることが分かった。更に、キラル認識のメカニズムの観点からダンシルアミノ酸の保持挙動とその疎水性との相関性について考察した。Dns-DL-Phe や Dns-DL-Leu のような疎水性の高い試料に対してより高いキラル選択性が得られた。このことから、疎水性が高い試料ほど CD 空孔内部との相互作用が強くなり、キラル認識能が高くなるものと考察した。

#### 4 モノリス酵素リアクターの開発と生体分子のモニタリング<sup>41)~45)</sup>

カテコールアミン類（ドーパミン、アドレナリン、ノルアドレナリン）は、脳神経系のほか、交感神経系の伝達物質としても働くことが知られている。カテコールアミン類の血中濃度は心疾患の重症度と相関があり、心疾患患者の病態をモニターするためのマーカーとなるため、これら化合物の連続測定が可能なセンサーが要求されている。しかしながら、血中共存物質であるアスコルビン酸（AA）や尿酸は電気化学活性を持つため、カテコールアミン類の測定に妨害となる。カテコールアミン類をモニターするとき

に妨害物質を除去する研究は重要な課題となっている<sup>42)</sup>。最近林らは妨害物質を除去する方法について酵素を固定化したマイクロピラーリアクターを集積化したマイクロチップを報告した<sup>45)</sup>。しかし、今後、より高除去率リアクターの開発が要求される。

これまでの研究により、モノリスシリカマトリックスは数~十数  $\mu\text{m}$  サイズの貫通孔と骨格の表面にナノサイズの細孔を持つので、比表面積がより大きい利点があり、酵素固定化の理想的なマトリックスであると期待される。そこで、アスコルビン酸酸化酵素を固定化したモノリス酵素リアクターを開発し、カテコールアミンセンサーとしての応用を行った<sup>41)~43)</sup>。酵素は水素結合、多重塩結合及びファンデルワールス力により、ナノ細孔の表面に物理的に吸着させた。物理吸着法は酵素の構造を保持し、活性を保ったままで固定化を行える簡便な方法と考えられる。

Fig. 9 に示すように、モノリスリアクターはセンサーの上流に接続し、シリンジポンプで試料の送液を行った。カテコールアミン類の測定の際には、印加電位を 550 mV vs. Ag/AgCl に設定した。Fig. 10 には酵素を固定化したモノリスリアクター（B, C）と固定していないリアクター（A）に 100  $\mu\text{M}$  の AA 及び 25  $\mu\text{M}$  ドーパミン（DA）を導入した際の応答電流を示す。Fig. 10C には Fig. 10B の AA の応答を拡大したときの結果を示す。A と B を比較すると、DA の応答電流は変わらないが、AA の応答電流は約 200 nA (A) から、0.5 nA (C) になった。計算上、モノリス酵素リアクターは 99% 以上の AA を除去できることになる<sup>41)42)</sup>。

酵素をより効果的に固定するために、モノリスシリカ上に共有結合を介した酵素の固定化と尿酸の除去を行っ

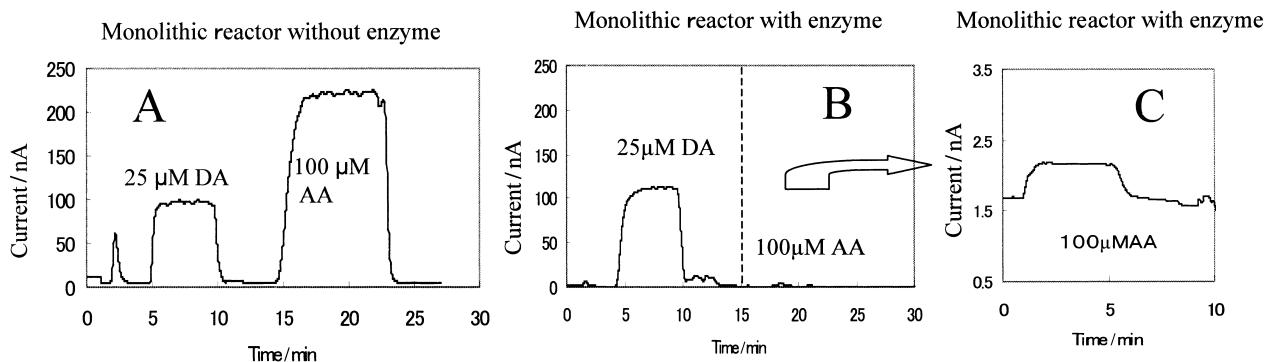


Fig. 10 Chronoamperometric response of oxidation of 100  $\mu\text{M}$  AA and 25  $\mu\text{M}$  DA on a micro-sensor integrated with a monolithic micro-reactor immobilized without enzyme (A) with enzyme (B, C)

Flow rate: 5  $\mu\text{l}/\text{min}$  (From Ref. 41)

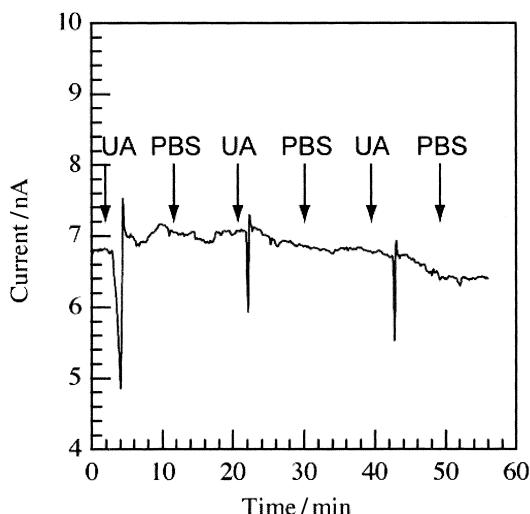


Fig. 11 Response current of 100  $\mu\text{M}$  uric acid (UA) when monolithic reactor modified with cross-linked uricase and catalase (From Ref. 44)

た<sup>44)</sup>。まず、シリジンポンプを用いてアミノプロピルエトキシシランのトルエン溶液を流しながらモノリスシリカ表面をアミノプロピルシリル化した。トルエン溶液で洗浄した後、グルタルアルデヒド溶液を同様に流し、最後にウリカーゼとカタラーゼ混合酵素溶液を流して酵素を固定した。Fig. 11 に示すように、共有結合により酵素を固定したモノリス酵素リアクターを用い、尿酸溶液を導入したとき、明瞭な応答が見られないことから、リアクター内部において効率よく尿酸が分解されていることが確認された。以上より、モノリス酵素リアクターが、様々な種類の酵素反応に対して適用可能である見通しが得られた<sup>44)</sup>。

## 5 電気浸透流マイクロポンプの開発と流れ分析への応用<sup>46)47)</sup>

ポンプは分析化学においてはん用されている装置の一つ

である。液体クロマトグラフィーや FIA などの流れ分析装置系の微小化の研究が進むにつれ、無脈流で連続的に超微量送液できるマイクロポンプの開発は重要な課題となっている。現在、主に微量送液に用いられているプランジャーポンプやシリジンポンプは、駆動系にモーターを利用しているためポンプ全体が大きなものになりがちであり、小型であっても送液の精度が劣るなどの問題がある。

電気浸透流を駆動力とした電気浸透流ポンプは、印加電圧によって正確に超微量送液ができる利点をもつことから、注目を集めている<sup>48)~50)</sup>。電気浸透流ポンプの開発には電気浸透流を生じさせるため、中空キャビラリー及び粒子を充填したカラムが用いられてきた。中空キャビラリーの場合は、流量は大きいが、高い圧力を生じないため、ポンプの下流に分析装置を接続するのには適さない。また、充填カラムでは、CEC と同様にフリットの作製やカラムの充填が困難であり、電圧印加時に電極反応で気泡がよく発生する問題がある<sup>48)</sup>。モノリスカラムではその表面特性から、より強い電気浸透流を生じさせられる。また、マイクロサイズの貫通孔はより大きな流体力学的抵抗を与えるため、より高い圧力を生起することができる。したがって、モノリスシリカは電気浸透流ポンプの理想的なマトリックスと考えられる。

最近著者らはモノリスシリカカラムを用い、電気浸透流ポンプの開発及び  $\mu$ -FIA とエレクトロスプレイ装置への応用を試みた<sup>46)47)</sup>。Fig. 2 には電気浸透流ポンプの構造を示す。電気浸透流ポンプの負荷圧力と流量の印加電圧依存性を Fig. 12 に示すように、6 cm の長さのモノリスシリカを用いて、0.4 MPa の負荷圧力があっても、400  $\text{nL}/\text{min}$  の流量で下流にある分析装置に送液することが可能となった。また、陰極側のモノリスに電場を印加するため、ナフィオン管をモノリスとキャビラリーとの間に接続した。この設計ではキャビラリー内部の液体と外部リザーバーとの液体交換が妨げられるので、陰極における反応で生じた気泡は

流路に入り込まなく、気泡の影響がなくなった。

Fig. 13 に示すように、検出器としたセンサーチップに

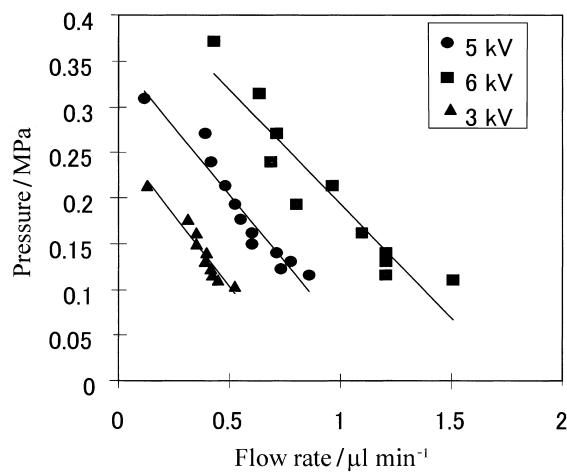


Fig. 12 Pressure *vs.* flow rate curves of EOP at different applied voltages of 3 kV, 5 kV and 6 kV

Running fluid: 1.5 mM EDTA - 0.26 mM Tris buffer; pH 6.0; Conductance:  $5.0 \times 10^{-4}$  S/cm (From Ref. 46)

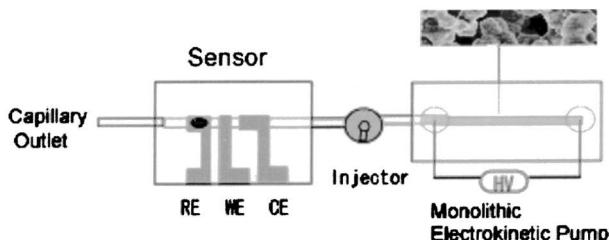


Fig. 13  $\mu$ -FIA system consists of a monolithic EOP, an injector and a microchip sensor with three carbon film electrodes (From Ref. 46)

このポンプを接続し、 $\mu$ -FIA 及び  $\mu$ -LCへの応用を試みた。

Fig. 14 には各種溶媒について、印加電圧と流量との関係を示す。Fig. 14 より明らかのように、モノリスシリカを用いた電気浸透流ポンプは印加電圧によって 200 nL~2.5  $\mu\text{l}/\text{min}$  の流量で水溶液を送液でき、LC にはん用されるメタノールやアセトニトリルも正確に送液することができる事が分かる。 $\mu$ -FIA 及び  $\mu$ -LC をはじめとする流れ分析にも適用できるものと考える。

更に、Fig. 15 に示すように、ポンプの出口に顕微鏡と高速カメラを組み合わせ設置した系を組み立て、負電圧を陰極に印加することより、Fig. 15 右に示す安定なテイラーコーンとナノジェットを有するエレクトロスプレイ（電気噴霧現象）を発生させることを観測した。将来は質量分析や材料科学などの分野に応用されるものと期待される。

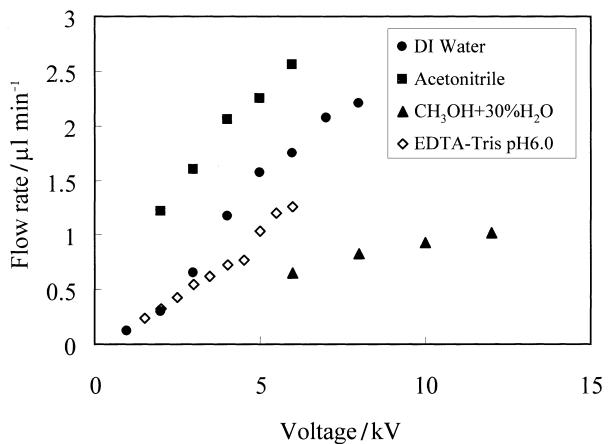


Fig. 14 Relationship between applied voltage and the flow rate for different fluids (From. Ref. 46)

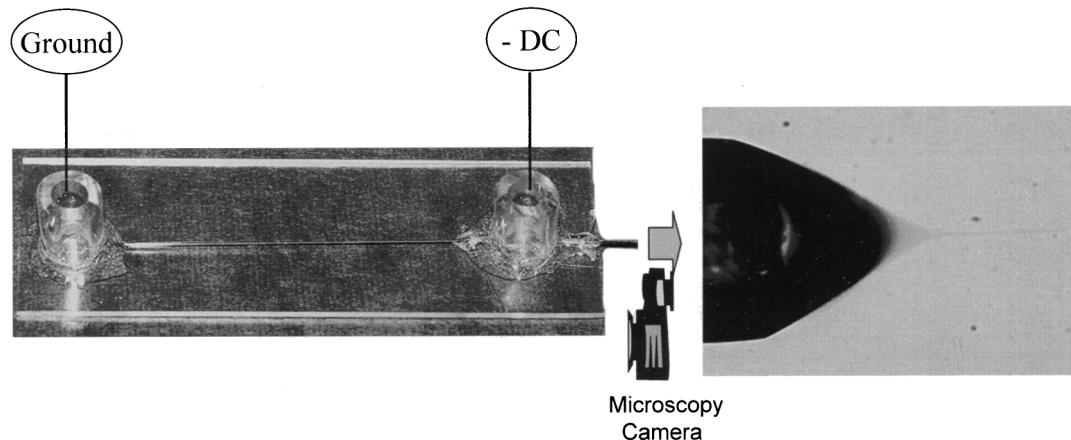


Fig. 15 Schematic microdevice of electrospray and images of stable Taylor cone and nanojet generated. Microscope with a high-speed digital camera is set at the tip of capillary for recording the imaging of electrospray.

## 6 結 語

近年著者らは分析化学におけるポーラスモノリスシリカを用いたキラル分離用カラム、酵素リアクター及び電気浸透流ポンプの開発を行った。まず、ゾル-ゲル法と化学修飾法を用いたキラルモノリスカラムを開発し、CECと $\mu$ -LCによるアミノ酸、ヒドロキシ酸及び小さなペプチドなどの生命科学的に重要な光学異性体の高性能分離を実現した。また、マイクロサイズの貫通孔と骨格表面にあるナノサイズの細孔を持つモノリスシリカの高比表面積を有する特性を利用し、カテコールアミン類をモニターするときに妨害物質のアスコルビン酸や尿酸を除去する酵素リアクターの開発に成功した。更に、最近モノリスシリカマトリックスを用い、電極反応のため生じた気泡の影響がなく、高圧を生じさせられる電気浸透流マイクロポンプの開発にも成功し、 $\mu$ -LC、 $\mu$ -FIA及び生体分子をモニターするセンサへの応用が期待できる。

著者の陳子林は日本で研究を行った際、東京都立大学内山一美助教授、NTTマイクシステムインテグレーション研究所丹羽修主幹研究員（現所属：産業技術総合研究所）、及び共同研究者の方々にご助言、ご協力をいただきました。ここに謝意を表します。

## 文 献

- 1) F. Svec, J. M. J. Frechet: *Science*, **273**, 205 (1996).
- 2) E. C. Peters, M. Petro, F. Svec, J. M. J. Frechet: *Anal. Chem.*, **69**, 3646 (1997).
- 3) F. M. Plieva, J. Andersson, I. Y. Galaev, B. Mattiasson: *J. Sep. Sci.*, **27**, 828 (2004).
- 4) Y. Li, R. Xiang, C. Horvath, J. A. Wilkins: *Electrophoresis*, **25**, 545 (2004).
- 5) M. Schmid, N. Grobuschek, C. Tuscher, G. Gubitz, A. Vegval, E. Maruska, A. Maruska, S. Hjerten: *Electrophoresis*, **21**, 3141 (2000).
- 6) N. Ishizuka, H. Minakuchi, K. Nakanishi, N. Soga, H. Nagayama, K. Hosoya, N. Tanaka: *Anal. Chem.*, **72**, 1275 (2002).
- 7) M. T. Dulay, J. P. Quirino, B. D. Bennett, M. Kato, R. N. Zare: *Anal. Chem.*, **73**, 3921 (2001).
- 8) J. D. Hayes, A. Malik: *Anal. Chem.*, **72**, 4090 (2001).
- 9) D. Allen, Z. El Rassi: *Analyst*, **128**, 1249 (2003).
- 10) J. Kang, D. Wistuba, V. Schurig: *Electrophoresis*, **23**, 1116 (2002).
- 11) E. F. Hilder, F. Svec, J. M. J. Frechet: *J. Chromatogr. A*, **1044**, 3 (2004).
- 12) F. Svec: *J. Sep. Sci.*, **27**, 747 (2004).
- 13) C. Legido-Quigley, N. D. Marlin, V. Melin, A. Manz, N. W. Smith: *Electrophoresis*, **24**, 917 (2004).
- 14) W. Li, D. P. Fries, A. Malik: *J. Chromatogr. A*, **1044**, 23 (2004).
- 15) N. Tanaka, H. Kobayashi, K. Nakanishi, H. Minakuchi, N. Ishizuka: *Anal. Chem.*, **73**, 420A (2001).
- 16) S. Le Gac, J. Carlier, J. C. Camart, C. Cren-Olive, C. Rolando: *J. Chromatogr. B*, **808**, 3 (2004).
- 17) S. Miyazaki, K. Morisato, N. Ishizuka, H. Minakuchi, Y. Shintani, M. Furuno, K. Nakanishi: *J. Chromatogr. A*, **1043**, 19 (2004).
- 18) S. Bigham, J. Medlar, A. Kabir, C. Shende, A. Alli, A. Malik: *Anal. Chem.*, **74**, 752 (2002).
- 19) D. S. Peterson, T. Rohr, F. Svec, J. M. Frechet: *Anal. Chem.*, **74**, 4081 (2002).
- 20) J. A. Tripp, F. Svec, J. M. J. Frechet, S. L. Zeng, J. C. Mikkelsen, J. G. Santiago: *Sensors and Actuators B*, **99**, 66 (2004).
- 21) Z. Chen, T. Hobo: *Anal. Chem.*, **73**, 3348 (2001).
- 22) Z. Chen, T. Hobo: *Electrophoresis*, **22**, 3339 (2001).
- 23) Z. Chen, K. Uchiyama, T. Hobo: *J. Chromatogr. A*, **942**, 83 (2002).
- 24) Z. Chen, M. Niitsuma, K. Uchiyama, T. Hobo: *J. Chromatogr. A*, **990**, 75 (2003).
- 25) Z. Chen, H. Ozawa, K. Uchiyama, T. Hobo: *Electrophoresis*, **24**, 2550 (2003).
- 26) 小沢 洋、陳 子林、川田勝彦、中釜達朗、内山一美、保母敏行：分析化学（*Bunseki Kagaku*），**52**, 1105 (2003).
- 27) 西山尚秀、陳 子林、中釜達朗、内山一美、保母敏行：分析化学（*Bunseki Kagaku*），**52**, 1005 (2003).
- 28) Z. Chen, T. Nishiyama, K. Uchiyama, T. Hobo: *Anal. Chim. Acta*, **501**, 17 (2004).
- 29) 陳 子林：分析化学（*Bunseki Kagaku*），**49**, 713 (2000).
- 30) 陳 子林：*Chromatogr.*, **24** (Supplement2), 1 (2003).
- 31) 陳 子林：化学と工業，**55**, 577 (2002).
- 32) Z. Chen, J. Lin, K. Uchiyama, T. Hobo: *J. Chromatogr. A*, **813**, 369 (1998).
- 33) Z. Chen, J. Lin, K. Uchiyama, T. Hobo: *Chromatographia*, **49**, 436 (1999).
- 34) Z. Chen, J. Lin, K. Uchiyama, T. Hobo: *Anal. Sci.*, **16**, 131 (2000).
- 35) Z. Chen, J. Lin, K. Uchiyama, T. Hobo: *J. Microcol. Sep.*, **11**, 534 (1999).
- 36) Z. Chen, K. Uchiyama, T. Hobo: *Anal. Sci.*, **16**, 837 (2000).
- 37) 陳 子林、内山一美、保母敏行：分析化学（*Bunseki Kagaku*），**49**, 759 (2000).
- 38) Z. Chen, M. Niitsuma, T. Nakagama, K. Uchiyama, T. Hobo: *J. Sep. Sci.*, **25**, 1197 (2002).
- 39) Z. Chen, K. Uchiyama, T. Hobo: *Anal. Chim. Acta*, **523**, 1 (2004).
- 40) Z. Chen: *Chromatogr.*, **25**, 9 (2004).
- 41) Z. Chen, K. Hayashi, Y. Iwasaki, R. Kurita, O. Niwa, K. Sunagawa: *Electroanalysis*, **17**, 231 (2005).
- 42) 陳 子林、林 勝義、丹羽 修：*Chemical Sensor*, **19** (Supplement B), 7 (2003).
- 43) Z. Chen, O. Niwa, K. Hayashi, Y. Iwasaki, R. Kurita, K. Sunagawa: Proceeding of 10<sup>th</sup> International Meeting on Chemical Sensors, July 11-14, 2004, Tsukuba, Japan.
- 44) 林 勝義、陳 子林、岩崎 弦、栗田僚二、砂川 賢二、丹羽 修：*Chemical Sensor*, **20** (Supplement A), 88 (2004).
- 45) K. Hayashi, R. Kurita, T. Horiuchi, O. Niwa: *Electroanalysis*, **14**, 333 (2002).
- 46) Z. Chen, P. Wang, H. C. Chang: *Anal. Bioanal. Chem.*, **382**, 817 (2005).
- 47) P. Wang, Z. Chen, H. C. Chang: *Sensors and Actuator*, in press, (2005).
- 48) S. Zeng, C. H. Chen, J. C. Mikkelsen Jr., J. G. Santiago: *Sensors and Actuators B*, **79**, 107 (2001).
- 49) T. T. Razunguzwa, A. T. Timperman: *Anal. Chem.*,

- 76, 1336 (2004).  
50) L. M. Lazar, B. L. Karger: *Anal. Chem.*, **74**, 6259  
(2004).

---

### 要 旨

モノリスシリカは骨格と流路を一体化した構造を持ち、しかも合成の際にミクロサイズの貫通孔、及び骨格表面のナノサイズの細孔を制御することができる特性を有する。そこで、新材料として注目され、分析化学の各分野でもその応用が大いに考えられる。本論文では、近年、著者らが検討した、1) ポーラスモノリスシリカを基に、化学修飾したキラルモノリスカラムの開発とキャピラリー電気クロマトグラフィー及びマイクロカラム液体クロマトグラフィーへの応用、2) 酵素を固定化したモノリスリニアクターの開発と生体分子の連続的なモニタリングへの応用、並びに3) 高い圧力を制御できる電気浸透流ポンプの開発と流動分析及びエレクトロスプレーへの応用に関し、その有効性を概説した。