移動現象論 一分離技術への応用—

Transport Phenomena — Its Application to Separation Technology —

米本 年邦

Toshikuni YONEMOTO

- 1950年9月生まれ
- 1974年東北大学卒業，1979年同大学院博士課程修了，同年同学助手，1987年同学助教授，現在に至る
- 東北大学工学部（〒980 仙台市青葉区荒巻字青葉）

1. 生化学物質の分離精製における移動現象論の役割

移動現象論は，運動量移動，熱移動，物質移動の三つの速度過程の単独あるいは組合せを統一して論じる学問体系であり，化学工業における原料あるいは製品分離の方法論である単位操作の論理的裏付けとなっている。

ところで最近の遺伝子組換え，細胞融合など，いわゆるニューバイオテクノロジーの発展は，それを高付加価値物質の生産に利用する新しい生物化学工業の創生を可能としつつあるが，その生産プロセスにおける製品コストの大半は，生物反応で得られた物質の分離精製あるいは回収工程が占めるとされている。

一般に生物反応器で生産される生化学物質は，類縁物質との混合物であること，熱および機械的変性を受けやすいことが特徴として挙げられる。図1に，細胞の作った有用物質の回収ならびに精製の

手順を示す。多数の操作が逐次的に行われていることが理解されよう。現在，各操作で実際に使用されている機器の多くは小型の回分装置であるが，将来の大規模生産に向けて，大型連続装置の開発が急務となっており，ここに移動現象論的視点に立脚した合理的な装置設計思想が求められている。

本稿では電気泳動分離を例にとり，上述の動きに関連して最近の研究を解説する。

2. 電気泳動の原理

アミノ酸，タンパク質，細胞といった生化学物

図1 バイオ物質の分離・精製チャート

- ➡ 細胞内有用物質獲得のための手順
- ⇄ 細胞外有用物質獲得のための手順

質の多くは両性電解質であり、溶液中ではその解離状態が pH によって影響を受け、低 pH では正の電荷を、高 pH では負の電荷を持つ。また、平均荷電数が 0 となる pH をその物質の等電点と呼ぶが、それは物質に特有の値である。

いま、寒天のようなゲルで電解槽を作り、それを適当な pH 雰囲気を保ったまま、図 2 に示すように、1 点に試料溶液を投入することを考える。各成分はそれぞれ正あるいは負に荷電し、電場の下、それぞれ陰極ならびに陽極に向かって固有の泳動速度で移動して、次第に分離する。これがゾーン電気泳動の原理である。

一方、電解槽全体に両性電解質の混合溶液を満たしたまま、図 3 に示すような pH こう配をつけると、各成分は泳動により次第に自身の等電点付近に集まり、拡散との動的平衡状態の下で濃縮分離が達成される。これが等電点濃縮の原理である。この他、物質の分子量ならびに荷電数等に依る泳動速度の差を利用して 2 成分を分離する等速電気泳動などを含め、生化学研究用として、各種電気泳動法が考案されているが、市販されている装置の大半は小型の回分式に留まっている。

3. 連続装置の設計

生化学の分野でも物質を単離して、その後の研究に供することが必要とされ、小規模ではあるが、以前より図 4 に示すような連続薄膜型ゾーン電気泳動装置が開発されている。この装置では試料および pH 緩衝溶液は上部より注入されるが、流路を薄膜状として、さらに外側に冷却水を流し、発生したジュール熱を除去することで、分離能低下をもたらす熱対流が抑制されるようになっている。

各試料成分の装置内における移動は、以下に示

図 2 ゾーン電気泳動の原理

す定常拡散方程式によって記述される。

$$u \cdot \nabla C_i = D_i \nabla^2 C_i + n_i D_i \nabla \cdot (C_i \nabla (\phi F / RT)) + \mathcal{R}_i \quad (1)$$

式中の右辺第 2 項は、荷電物質が電場の作用の下で移動する量、すなわち泳動移動の量を表すが、これには拡散係数の他、荷電量および電位こう配が影響する。また、両性電解質は前述したように種々の“荷電状態種”が存在し、それぞれの“種”に対して式 (1) が成立するが、それらは互いに解離平衡反応を介して連立している。右辺第 3 項がこれを表している。水の解離によって生じた水素ならびに水酸化物イオンを含めると、単純な両性電解質であるアミノ酸同士の分離の場合でも、連立する式が 10 本程度となる。すなわち、装置設計あるいは最適運転条件探索を目指して基礎式を解くためには、数値計算がぜひとも必要となる。

タンパク質の分離を対象とする場合、その解離平衡は 100 段にも上るため、個々の解離種を成分

図 3 等電点濃縮の原理

図 4 連続薄膜型ゾーン電気泳動装置

図5 ガラス粒子充てん層連続電気泳動の概略

とした計算は実質上不可能である。この場合、平均荷電数を導入して、タンパク質がその平均荷電を持った1成分のみから構成されるとみなした計算を行うことで解を得る。

発生熱の除去が完全に行われているとすれば、装置内の速度分布はおおむね放物線状を取るが、その場合、側壁近くの溶質は中央のものよりゆっくりと流れるため、装置内部での滞在時間が長くなり、電場によって一層長い距離を泳動させられる。かくして溶質は三日月バンドの形状で流出するが、これは分離の目的からは望ましくない溶質の分散の原因となり、この克服が課題となる。

装置内部に微粒子を充てんすれば、液体の流れは栓流となり、三日月バンドの発生が抑制される。図5はガラス粒子を充てんして内部で栓流流れを達成した等電点濃縮方式による、連続電気泳動装置の概要である。2成分タンパク質を数種の緩衝剤と共に上部より装置全体に投入すると、各タンパク質成分は互いに分離されるだけでなく、濃縮されて出てくるが、この移動過程も数値的に解かれている⁽¹⁾⁽²⁾。

熱対流の影響を減じる別の方法として、微粒子を充てんする代わりに溶液を高速で流すことが考えられる。この場合、1回の流路通過で分離を達成させるには膨大な流路長さが必要となり、非現実的である。そこで、完全な連続操作とはいえない

いが、外部に多数の試料容器を設け、多チャンネルポンプを用いた循環操作により高度の分離濃縮を達成させる装置も考案されている⁽³⁾。泳動槽内を液体が高速で流れるため、ジュール熱による温度上昇が元来小さく、外部容器を冷却するだけで、系全体を低温に保つことが出来る。タンパク質など、生化学物質の多くは前述したように、熱変性を受けやすいが、本装置はこの点からも有利である。

4. 結 び

生化学物質の分離法の中で、電気泳動法とは別原理に基づくものとして液体クロマトグラフィーがある。これも分析機器として一般的であるが、最近ではカラム径が1m以上で、工業規模の分離回収用に用いられるものも開発されている。しかしカラム内において、栓流流れの達成などの点で問題も多く、流体力学あるいは移動現象論による解析が望まれているのが実状である。また、クロマトグラフィーも擬似移動層あるいは回転環状方式による連続化が提案されており、電気泳動との組合せなど、新しい装置の開発も種々行われている⁽⁴⁾。この分野の研究開発に機械技術者の参加を期待したい。

文 献

- (1) Zheng, S.N., Yonemoto, T. and Tadaki, T., Continuous-Flow Electrophoresis for Concentration of Protein, *J. Chem. Eng. Japan*, **24**-1 (1991), 62.
- (2) Zheng, S.N., Yonemoto, T. and Tadaki, T., Separation of Proteins by Continuous Isoelectric Focusing, *J. Chem. Eng. Japan*, **24**-4 (1991), 471.
- (3) Bier, M., Twitty, G.E. and Sloan, J.E., Recycling Isoelectric Focusing and Isotachopheresis, *Journal of Chromatography*, **470**-2 (1989), 369.
- (4) Ivory, C.F., The Prospects for Large-Scale Electrophoresis, *Separation Science and Technology*, **23**-8 (1988), 875.

(原稿受付 1991年11月7日)