

# 水性二相分配系における界面張力の測定ならびに相関\*

三 島 健 司\*\*  
松 山 清\*\*

## Measurement and Correlation of Interfacial Tension of Aqueous Two-Phase Systems

Kenji MISHIMA and Kiyoshi MATSUYAMA

Interfacial tension of the aqueous two-phase systems containing poly (ethylene glycol) (PEG4000, MW=4,000; PEG6000, M.W.=7,5000; PEG20000, M.W.=20,000) and electrolyte ( $K_2HPO_4$ ,  $(NH_4)_2SO_4$ ) was experimentally determined by using a shaking flask method and a drop volume method at 298.15 K. The experimental data were correlated by UNIQUAC model.

**Key Words:** Interfacial Tension, Aqueous Two-Phase, UNIQUAC

### 1. 緒 言

近年、バイオテクノロジーの発展に伴い、タンパク質などの生体関連物質を工業的規模で大量に生産するプロセスの開発が切望されている。生体関連物質は、一般に熱や有機溶媒により変質する可能性が高く、それらの分離プロセスとしては、生化学的に穏和な環境を与えるプロセスが望ましい。既に、種々のプロセスが検討されているが、中でも親水性高分子水溶液の相分離現象を利用する水性二相分配法は、有害な有機溶媒や熱を用いず、かつ、スケールアップの容易な相分離系であるため、生体関連物質の工業的分離プロセスへの適用が期待されている<sup>(1), (2)</sup>。

親水性高分子、電解質などを構成成分とし、上下相とも70~90%の水から成り比較的温かな環境である水性二相分配系は、当初、細胞やタンパク質などの分析技術として注目され、Albertssonらによって精力的な研究がなされた<sup>(1)</sup>。研究室レベルでは、生理活性物質の分離法として既に幅広く利用されている。しかし、水性二相分配系の工業化において、相互溶解度、液液平衡<sup>(3)~(6)</sup>、分配係数<sup>(7), (8)</sup>、界面張力等の諸物性に関するデータは十

分ではなく、さらにこれらを予測する手法が望まれている。特に水性二相分配系の界面張力については、有機溶媒-水系の界面張力に比べてその値が小さく安定したデータが取得しにくいことから、測定例も少ない<sup>(9)</sup>。

そこで本研究では、液滴容積法を用いて水性二相分配系である PEG4000 -  $K_2HPO_4$  - 水、PEG6000 -  $K_2HPO_4$  - 水、PEG20000 -  $K_2HPO_4$  - 水、PEG6000 -  $(NH_4)_2SO_4$  - 水系の界面張力の測定を試みた。さらに、得られた界面張力のデータについて UNIQUAC 式による相関を試みた。

### 2. 実験方法

#### 2.1 試 薬

本研究では、親水性高分子として、和光純薬工業製の一級試薬であるポリエチレングリコール4000 (Lot. No. LKL0711,  $M_w = 3,000$ , 以下 PEG4000と略記)、ポリエチレングリコール6000 (Lot. No.SAE1576,  $M_w = 7,500$ , 以下 PEG6000と略記)、ポリエチレングリコール20000 (Lot. No.WDK1981,  $M_w = 20,000 \pm 5,000$ , 以下 PEG20000と略記)を用いた。また、電解質には、和光純薬工業製の特級試薬であるリン酸水素二カリウム ( $K_2HPO_4$ ) および硫酸アンモニウム ( $(NH_4)_2SO_4$ )を用いた。リン酸水素二カリウムは、110°Cで5時間乾燥して使用した。さらに、水はMILLIPORE社製の超純

\* 平成15年5月31日受理

\*\* 化学システム工学科

水製造装置 (MILLI-Q Labo.) により製造した超純水を用いた。

## 2.2 測定方法

界面張力の測定には、液滴容積法を用いた。液滴容積法では、ピュレットに下相の溶液を入れコック調節により液溜の上相中に約5分以上かけて、液滴を生成させて、液滴1個の容積  $V$  は、静かに落下させた液滴の総体積と落下液滴数より、液滴形成部毛管半径  $r$  は、読取顕微鏡により測定した。また、落下液滴数はレーザーを用いたカウント装置により測定した。界面張力の計算方法を以下に示す。

$$\sigma = \frac{V(\rho_1 - \rho_2)g}{r} f \quad (1)$$

ここで、補正係数  $f$  は  $(r/V^{1/3})$  の値より決定される補正係数である。

## 3. 関連方法

水性二相分配系において平衡状態にある上下相の間に界面相があると仮定する。この界面相における Gibbs 自由エネルギー  $G^S$  が、混合状態 (相分離前) の系全体の Gibbs 自由エネルギー  $G^F$  から、相分離後の上下相における Gibbs 自由エネルギー  $G^{\text{TOP}}$ 、 $G^{\text{BOT}}$  を引いたものとして次式で与えられるとする。

$$G^S = G^F - (G^{\text{TOP}} + G^{\text{BOT}}) \quad (2)$$

また、界面相における Gibbs 自由エネルギー  $G^S$  と界面張力  $\sigma$  の次のような関係式がある。

$$G^S = \sigma A + \sum \mu_i n_i^S \quad (3)$$

ここで、上式の右辺第二項が上下相の濃度変化に対しての変化量がわずかであれば、以下のように定数とおける。

$$G^S = a'\sigma + b' \quad (4)$$

したがって、次式を用いて水性二相系における界面張力の相関を行った。

$$\sigma = aG^S + b \quad (5)$$

本研究では、Gibbs 自由エネルギー  $G^E$  を求める式として UNIQUAC 式<sup>(10)</sup>を用いた。 $G^E$  は、UNIQUAC 式により次のように与えられる。

$$G^E = G^E(\text{combinatorial}) + G^E(\text{residual}) \quad (6)$$

$$\frac{G^E(\text{combinatorial})}{RT} = \sum_i x_i \ln \frac{\phi_i}{x_i} + \frac{z}{2} \sum_i q_i x_i \ln \frac{\theta_i}{\phi_i} \quad (7)$$

$$\frac{G^E(\text{residual})}{RT} = - \sum_i q_i x_i \ln \left( \sum_j \theta_j \tau_{ji} \right) \quad (8)$$

$$\phi_i = \frac{r_i x_i}{\sum_j r_j x_j} \quad (9)$$

$$\theta_i = \frac{q_i x_i}{\sum_j q_j x_j} \quad (10)$$

ここで、 $r_i$  および  $q_i$  は成分  $i$  の体積および表面積パラメータ、 $x_i$  は成分  $i$  のモル分率、 $z$  は配位数であり  $z=10$  とした。また、 $\tau_{ij}$  は、成分  $i-j$  間における相互作用パラメータである。相互作用パラメータ  $\tau_{ij}$  は、各水性二相分配系の液液平衡組成を満足に表現するようにパラメータフィッティングにより決定した。

## 4. 結果

### 4.1 測定結果

25°Cにおける各水性二相系の界面張力の測定結果を **Table 1**, **Figs. 1~3** に示す。横軸の TLL (Tie-line length) は、水性二相分配系における液液平衡組成におけるタイラインの長さを示す。TLL は次式で与えられる。

$$\text{TLL} = \sqrt{(W_1^{\text{TOP}} - W_1^{\text{BOT}})^2 + (W_2^{\text{TOP}} - W_2^{\text{BOT}})^2} \quad (11)$$

なお、式(11)の  $W_i$  は成分  $i$  の重量分率、下付文字の1,2 はそれぞれ PEG および電解質を示す。水性二相系の界面張力はタイライン長さの増加とともに指数関数的に増大することがわかった。また、前報では、TLL と  $\log \sigma$  の間には、直線関係が成立することを報告したが、今回も同様の結果を得ることができた。また、界面張力は液液平衡組成がプレートポイントに近づくにともない急激に減少することもわかった。

### 4.2 相関結果

UNIQUAC 式を用いて決定した水性二相分配系の界面相における Gibbs 自由エネルギー  $G^S$  と界面張力  $\sigma$  の相関性について検討した。一例として PEG4000(1) -  $\text{K}_2\text{HPO}_4(2)$  - 水(3)系における界面張力  $\sigma$  と自由エネ

**Table 1** Interfacial tension in aqueous two-phase systems at 298.15 K

System*	$\sigma \times 10^5$ [N/m]					
	Tie-Line No.					
	1	2	3	4	5	6
Sys.A	9.88	19.51	41.70	55.41	75.36	
Sys.B	6.54	9.31	29.77	26.18	46.76	81.89
Sys.C	14.60	20.97	31.62	55.23	60.12	
Sys.D	5.81	15.19	26.52	52.54	75.03	

Sys.A is PEG4000(1)- $\text{K}_2\text{HPO}_4(2)$ -water(3) system  
 Sys.B is PEG6000(1)- $\text{K}_2\text{HPO}_4(2)$ -water(3) system  
 Sys.C is PEG20000(1)- $\text{K}_2\text{HPO}_4(2)$ -water(3) system  
 Sys.D is PEG6000(1)- $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4(2)$ -water(3) system

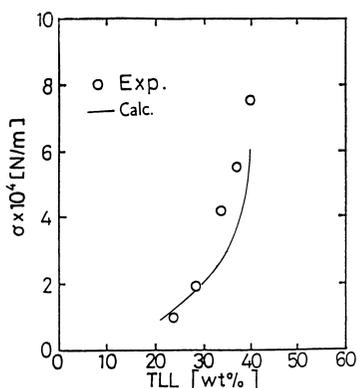


Fig.1 Experimental and calculated results of interfacial tension for the PEG4000(1)-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(2)-water(3) system at 298.15 K.

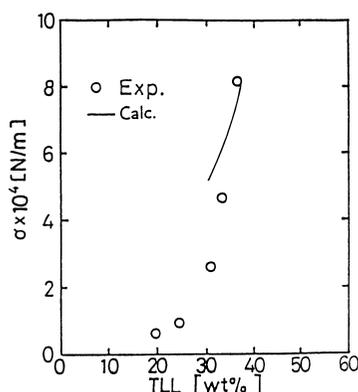


Fig.3 Experimental and calculated results of interfacial tension for the PEG20000(1)-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(2)-water(3) system at 298.15 K.

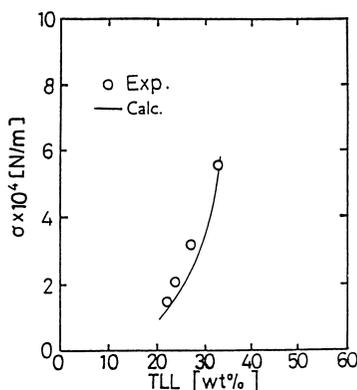


Fig.2 Experimental and calculated results of interfacial tension for the PEG6000(1)-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(2)-water(3) system at 298.15 K.

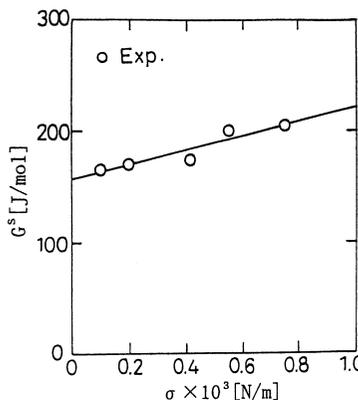


Fig.4 Relationship between the interfacial tension and G<sup>s</sup> for PEG4000(1)-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(2)-water(3) system at 298.15 K.

Table 2 Parameters *a* and *b*

System	$a \times 10^5 [\text{m}^{-2}]$	$b \times 10^3 [\text{N/m}]$	Dev** [%]
Sys.A*	-1.38	-2.14	19
Sys.B	1.21	-1.80	105
Sys.C	0.839	-1.14	20
Sys.D	3.31	-6.25	68

\*Sys.A is PEG4000(1)-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(2)-water(3) system

Sys.B is PEG6000(1)-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(2)-water(3) system

Sys.C is PEG20000(1)-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>(2)-water(3) system

Sys.D is PEG6000(1)-(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>(2)-water(3) system

$$**\text{Dev.} = \frac{100}{N} \sum_j \frac{|\sigma_j^{\text{exp.}} - \sigma_j^{\text{calc.}}|}{\sigma_j^{\text{exp.}}}$$

where *N* is the number of data points.

ギー  $G^s$  の関係を Fig.4 に示す。  $G^s$  と  $\sigma$  の間には、ほぼ直線的関係があり Eq.(5) の妥当性を示すことができた。

決定した Eq.(5) 中のパラメータ *a*, *b* を Table 2 に示す。また、水性二相系における界面張力の相関結果を Figs.1~3 に示す。UNIQUAC 式による相関結果は良好であった。

#### 使用記号

<i>q</i>	surface area parameter	[-]
<i>R</i>	gas constant	[J·K <sup>-1</sup> ·mol <sup>-1</sup> ]
<i>r</i>	volume parameter	[-]
<i>T</i>	temperature	[K]
TLL	tie-line length	[wt.%]
<i>W</i>	weight fraction	[wt.%]

$x$	mole fraction	[-]	(2) Zaslavsky, B. Y.: "Aqueous Two-Phase Partitioning", Marcel Dekker, New York (1995)
$z$	coordination number	[-]	(3) Furuya, T., Y. Iwai, T. Shimizu and Y. Arai: <i>Kagaku Kogaku Ronbunshu</i> , <b>16</b> , 830 (1990)
(Greek letters)			
$\theta$	see Eq.(9)	[-]	(4) Gao, Y. L., Q. H. Peng, Z. C. Li and Y. G. Li: <i>Fluid Phase Equilibria</i> , <b>63</b> , 157 (1991)
$\sigma$	interfacial tension	[N·m <sup>-1</sup> ]	(5) Mishima, K., S. Morii, S. Nagayasu, H. Eya, M. Nagatani and Y. Arai: <i>Kagaku Kogaku Ronbunshu</i> , <b>19</b> , 1171 (1993)
$\tau$	interaction parameter	[-]	(6) Mishima, K., K. Nakatani, T. Nomiya, K. Matsuyama, M. Nagatani and H. Nishikawa: <i>Fluid Phase Equilibria</i> , <b>107</b> , 269 (1995)
$\phi$	see Eq.(10)	[-]	(7) Furuya, T., S. Yamada, Z. Jian, Y. Yamaguchi, Y. Iwai and Y. Arai: <i>Fluid Phase Equilibria</i> , <b>125</b> , 89 (1996)
$\phi$	volume fraction	[-]	(8) Eiteman, M. A. and J. L. Gainer: <i>Biotechnol. Prog.</i> , <b>6</b> , 479 (1990)
(Superscripts)			
TOP	top phase		(9) Mishima, K., K. Matsuyama, M. Ezawa, Y. Taruta, S. Takarabe, M. Nagatani: <i>J. Chromatography B</i> , <b>711</b> , 313 (1998)
BOT	bottom phase		(10) Abrams, D. S. and J. M. Prausnitz: <i>AIChE J.</i> , <b>21</b> , 116 (1975)
e	excess property		
s	surface phase		
(Subscripts)			
1	polymer		
2	polymer or electrolyte		
3	water		
$i, j$	component $i$ and $j$		

#### 引用文献

- (1) Albertsson, P. -A.: "Partition of Cell Particles and Macromolecules", John Wiley & Sons inc., New York (1986)