

東京大学大学院新領域創成科学研究科
人間環境学専攻

修士論文

マイクロバブルを利用した中空電解質ポリマーマ
イクロカプセルの製作

修了年月 2008年3月

指導教員 大宮司 啓文 准教授

学生証番号 47-66817

武藤 聡史

マイクロバブルを利用した中空電解質ポリマーマイクロカプセルの製作

66817 武藤 聡史
指導教官 大宮司 啓文准教授

Hollow polyelectrolyte micro- and nano-capsules have recently received much attention because of significance in biotechnological and nanotechnological frontiers and potential for exploitation in biology, medicine, catalysis, ecology and nutrition. They are commonly fabricated by layer-by-layer adsorption of oppositely charged polyelectrolyte onto dispersed templates such as solid particles followed by dissolution of the templating core. Though, this fabrication technique needs much time because only one layer can be deposited in each adsorption process. In this study, we proposed two new fabrication technique of hollow PAH/PSS polyelectrolyte microcapsules from microbubble templates. The first is self-assembly of polyelectrolyte at the interface between water and organic solvent. After microbubbles were generated in methylene chloride + PAH droplets dispersed in water, an oppositely charged polyelectrolyte (PSS) aqueous solution was added to the water phase. The fabricated hollow PAH/PSS polyelectrolyte microcapsules were observed at the edge of methylene chloride droplets. The second is self-assembly of polyelectrolyte at the interface between liquid and gas. After pH value of PAH and PSS solution was adjusted to 12, this solution was left on overnight. When pH value was around 10, spherical matters were generated in large quantities. This matter was identified as gas-filled polyelectrolyte capsules by fluorescence microscopy images and ultrasound diagnosis. By these two means, production process of hollow polyelectrolyte capsule can be simplified.

Key words: hollow microcapsules, microbubbles, polyelectrolyte, layer-by-layer adsorption, self-assembly

1. 緒言

マイクロカプセルとはマイクロオーダーの微小な容器である。膜厚は直径の 1~10%であり、カプセル膜は主として天然あるいは合成高分子から出来ているが、その他酸化セラミックス、混合酸化物、金属などの無機材料、脂質など様々なものから構成されている。内容物を壁膜によって外部環境から保護し、また壁膜のために外部に溶出する際の速度が調整できるため、医薬品、化粧品、染料など様々な物質に対して用いられている。^{[1][2]}マイクロカプセルに対して様々な作成方法が研究されているが、現在注目されている方法の一つに交互吸着膜法を利用した電解質ポリマーカプセルがある。これは静電気力をもった固体芯物質に電荷を持つ膜物質を交互に吸着させることで膜生成を行い、最後に芯物質を除去することでカプセルを形成する方法である。芯物質の大きさをカプセルに反映させることが出来るためサイズや均一性の制御が容易であること、一層ずつ膜吸着を行うことで数十nm単位での膜厚コントロールが可能であるといった特徴がある。^[3]このように非常に優れた特徴を持っているカプセルであるが、一層ごとの膜形成や、芯物質の除去工程の必要など、作成には手間がかかる。

マイクロカプセルの簡潔な生成方法としてマイクロバブルを芯物質にして内部に気体を包含する中空マイクロカプセルを生成する方法がある。この方法はマイクロバブルに対して直接膜吸着を行うため芯物質を除去する必要がないため、工程が簡潔である。

本研究の目的はこのマイクロバブルを芯物質にする方法を利用して、電解質ポリマーマイクロカプセルをより簡潔に形成し、出来たカプセルの分析とその形成過程を明らかにすることである。そのため電解質ポリマーカプセルが生成可能なことを確認した後、マイクロバブルをテンプレートにした二つのカプセル作成方法に対して実験を行った。

2. 固体芯物質を用いたカプセル作成

実際に電解質ポリマーカプセルが形成可能かを判断するために、既存の方法でカプセル形成を行った。

2.1 実験方法

a) 試薬 本研究では膜物質として、正電解質ポリマーである Poly(allylamine hydrochloride) (PAH)、負電解質ポリマーである Poly(sodium 4-styrene sulfonate) (PSS) をそれぞれ 0.5 M塩化ナトリウム水溶液で溶解し、濃度 1 mg/ml, pH 6.5 の値に設定した。また芯物質には市販の 3 wt % メラミンホルムアルデヒド(MF) 粒子と、自作した炭酸カルシウム(CaCO₃)粒子 2 % w/vを用いた。芯物質を溶解するため、MF粒子には塩酸(pH1.2)、CaCO₃粒子には 0.2M Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) 溶液を使用した。

b) 実験手順 マイクロカプセル製作手順を以下に示す。芯物質を反対電荷のポリマー溶液に分散させ 10 minほど攪拌させ芯物質上に膜物質を吸着させた。その後MF粒子が芯物質の場合は 2000 rpm、CaCO₃の場合は 6000 rpmで遠心分離し上澄みを除去し純水でリンスすることで吸着

しきれない余分なポリマーを取り除いた。作成する膜層数分だけこの操作を繰り返し、膜形成を行う。今回はMF粒子に対して7層、CaCO₃粒子に対して8層のポリマー吸着を行った。膜形成後MF粒子を用いた場合は塩酸を滴下し60℃で一晩攪拌、CaCO₃粒子を用いた場合はEDTA溶液を滴下し30 min攪拌を三回繰り返すことで芯物質を除去した。

2.2 実験結果

作成したカプセルのSEM画像をFig.1(a)(b)に示す。カプセルが形成されていることがはっきり確認できた。さらに撮影されたカプセルが潰れていることから、芯物質が溶解していることが確認された。

2.3 考察

先行研究のSEM画像と比べて酷似していることから^{[4][5]}、カプセル形成を再現できたと判断した。また、それぞれの芯物質と生成されたカプセルの表面形状を確認したところ、芯の形状と酷似していることから、カプセルの表面形状が芯物質の形状に依存していることがわかる。

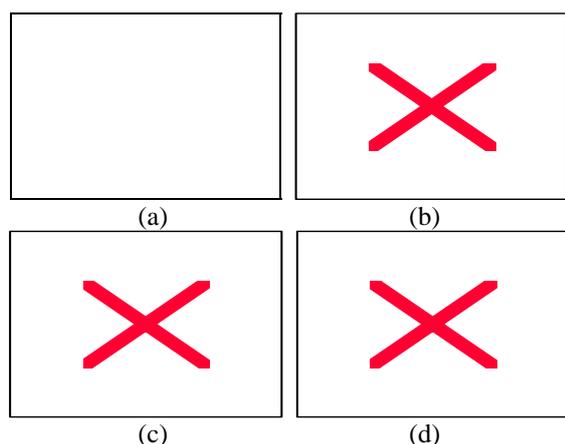


Fig.1 SEM images of (a) MF and (b) CaCO₃ particles. And hollow capsule images of (c) 7 layer (PSS/PAH)₃/PSS on MF core and (d) 8 layer (PAH/PSS)₄ on CaCO₃ core after dissolving cores.

3. マイクロバブルを用いた中空マイクロカプセル

電解質ポリマーマイクロカプセルをより簡潔に作るため、マイクロバブルを芯にしてカプセルを生成する実験を行った。有機溶媒を利用する方法と、自然凝集を利用する方法の二種類を行った。

3.1 有機溶媒利用法

水と有機溶媒の界面に膜を形成し、有機溶媒側から気泡を発生させることで、中空マイクロカプセルを生成し、作成したカプセルについて分析を行った。

3.1.1 実験方法

a) 試薬 膜物質は2.1と同じPAH, PSSをそれぞれ1mg/ml, 10mg/mlの濃度で純水に溶解させ使用した。また有機溶媒にはジクロロメタンを使用した。

b) 実験手順 塩化メチレン5 mlとPAH溶液1 mlを同じ容器にとり、超音波をあてて混合させる。作成された混合液をシリンジで9 mlの水を張ったシャーレに液滴として注入し、シャーレの底に塩化メチレンの液滴を形成した。その後PSS溶液を水側から1ml滴下し、時間経過とともに光学顕微鏡、蛍光顕微鏡を用いて観察した。

3.1.2 実験結果

a) デフォルト条件 光学顕微鏡、蛍光顕微鏡による観察結果をFig.2に示す。PSSを投入して二時間ほど置いた後塩化メチレンの液滴の端を観察してみると、直径5~20μmの中空カプセルを確認することが出来た。蛍光顕微鏡の図がリング状になっていることから、中空のカプセルが生成されたことが言える。

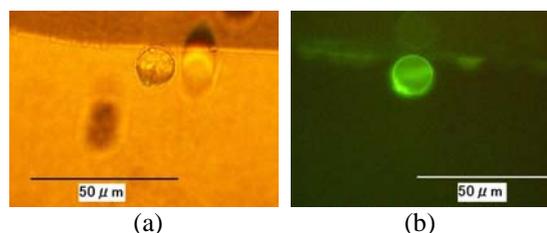


Fig.2 (a) Optical and (b) fluorescence microscopy images of hollow capsules fabricated from microbubble templates at the edge of a methylene chloride droplet.

b) カプセル分析 膜物質に使用する水側に溶解させるPSSの濃度を変化させ、カプセル形成への影響を観察した。濃度を1 mg/ml, 10 mg/mlとしたときの光学顕微鏡の画像をFig. 3に示す。水側のポリマーの濃度が濃いほど、作成されるカプセルの数が増加した。さらに、塩化メチレン内に分散させているポリマーを除き、純水に溶解しているポリマーであるPSSのみで実験を行ったところ、カプセル生成が確認された。片側のポリマーのみでもカプセル生成が可能ながわかった。また、このカプセルの安定性を調べるため、同一のマイクロカプセルを光学顕微鏡を用いて観察し続け、時間経過による変化を調べた。すると、時間が経過するごとにカプセルの径が小さくなっていく様子が観察された。これは芯物質である気泡が溶解していつてしまうためと考えられる。そのため、予め純水に加圧をして空気の飽和水を作成し、これを実験に用いたところ、カプセルの径の縮小変化を抑えることができた。

3.1.3 考察

この方法で作成されたカプセルの組成について考察した。作成されたカプセルは純水に放置す

ると縮小したこと、ポリマー濃度によって生成された数を変化させたことから、芯物質を気体、膜物質をポリマーというマイクロカプセルであることが言える。水側のポリマーの濃度によって電解質ポリマーマイクロカプセルの存在数が変化したことについて、濃度を濃くすることで界面に吸着しているポリマーがより多くなり、膜が形成しやすくなったためと考えられる。Fig.4 に概念図を示す。しかし水側のポリマーのみで実験を行っても同じようにカプセルが作成されていることから、塩化メチレン内のポリマーはほとんど膜形成に関係せず、カプセルにはほぼ一層の膜しか形成されていないと考えられる。またカプセルが数時間で縮小してしまうことから、生成されたカプセルは非常に不安定であると考えられる。

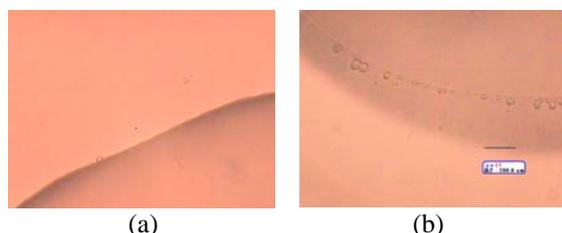


Fig.3 Optical microscopy images of air-(PAH/PSS) microcapsules. The concentration of PSS dissolved in aqueous solution is (a) 1mg/ml and (b) 10mg/ml. PAH 1mg/ml is dispersed in organic solvent.

3.2 自然凝集法

マイクロバブルを芯にしてカプセルを生成するために、マイクロバブルの周りにポリマーを自然凝集させる方法を試みた。カプセルの生成を確認した後、カプセルの詳細を知るための分析を行い、さらにその形成過程を考察した。

3.2.1 実験方法

a)試料 前章と同様、PAHとPSS、蛍光吸着ポリマーとしてFITC-PAHを用いた。
b)実験手順 シャーレにpHを12に調整した純水を8ml入れる。その後、同じくpHを12に揃えた10mg/ml PAH溶液と0.1mg/ml PSS溶液を1mlずつ加え、ガラス棒で攪拌させる。全体でpH12、PAH濃度1mg/ml、PSS濃度0.01 mg/mlの水溶液10mlを作成する。その後溶液の入ったシャーレを大気中に放置し、そのまま一晩置く。

3.2.2 実験結果

a)デフォルト実験 デフォルトの実験方法で作成された物質を光学顕微鏡、蛍光顕微鏡を用いて観察した。画像をFig. 4に示す。Fig.4(a)のように、非常に綺麗な球状物質を観察することが出来た。さらに蛍光観察を行ったところ、中実と中空の両方の画像が観察された。この方法により、粒子とカプセル両方の物質が溶液内に分散していると考えられる。

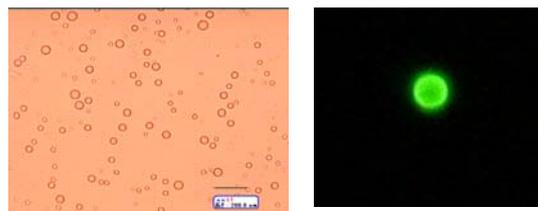


Fig.4 (a) Optical and (b) Fluorescence microscopy images of PAH (1mg/ml) and PSS (0.01mg/ml) solution at pH10.

b) カプセル分析 カプセルの中身が気体であることを示すため、超音波による音響試験を行った。音響試験とは、超音波を対象物に当てその反響を映像化することで、対象物の内部の状態を調査する方法である。対象物に気体が存在すると、強い反射が起こり、白い輝点として現れる。測定した画像をFig. 5に示す。意図的に純水を攪拌させ測定した場合(Fig. 5(a))は、気泡の部分が非常に大きく明るく見え、その後、即座に消えていってしまう。一方、純水にカプセルを分散させて測定を行ったところ、(Fig. 5(b))小さな輝点が多く観察され、また時間が経っても消える様子はなかった。明らかに水中の気泡とは異なっているため、作成をした物質は、気体を芯物質にして形成されたカプセルであると判断した。

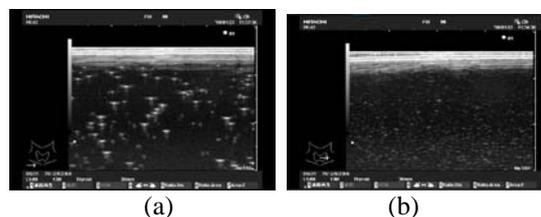


Fig. 5 The ultrasonographic image of (a) stirred water and (b) capsule dispersed solution: (a) Large bright dots in this image are micro bubble with stirring. These dots vanish immediately. (b) Small bright dots are microcapsules, maintained with time.

c) 形成過程測定 カプセルの形成過程を調べるため、作成時、溶液を長時間大気中に置いておく間に起こる変化を測定した。すると時間ごとにpHが下がっていく様子が測定された(Fig.6)。そしてカプセル形成はpH値10前後に起こることも確認された。そこで、塩酸や二酸化炭素を用いて意図的にpHを下げ、カプセル形成が行われるか観察を行った。またポリマーの有無もパラメータに組み込み実験を行った。すると10前後のpH値、二酸化炭素、ポリマーの三つの条件が揃ったときのみカプセル形成が確認された。

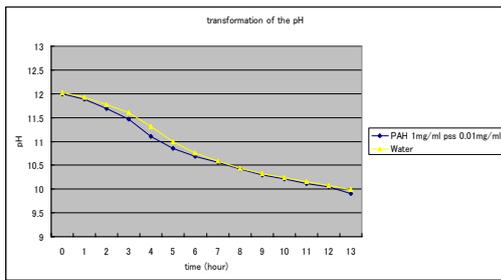


Fig.6 Graph of transformation of the pH vs. times.

先ほどの実験でポリマーが反応に必要な不可欠なことがわかったため、ポリマーの種類、またその濃度を变化させることで生成に必要な条件を更に絞り込んだ。デフォルトの条件では PAH と PSS を混合して用いたが、一種類だけのポリマーを溶解させた試料を用いて同様の実験を行った。濃度は 1mg/ml とした。すると PAH 溶液はカプセル形成が行われたのに対し、PSS 溶液は何も反応が起こらなかった。そのため PAH に条件を絞込み、濃度を变化させて実験を行い起こる変化を測定した。すると、濃度が濃いほど作成されたカプセル数が多くなり、サイズも大きくなった。この結果より、カプセル形成が起こる反応には PAH が必要であること、またその際、PAH は膜形成だけでなく、発泡プロセスにも関係がある可能性があることがわかった。

3.2.3 考察

a)カプセル組成 カプセルは実験の結果から芯物質に気体、膜物質に PAH を使用した物質であると判断できる。しかし、画像からではこれ以上詳細な分析は出来ないため、形成過程を分析しながら組成を考察することにする。

b)形成過程 カプセルが形成されるために必要な条件は実験から、二酸化炭素、10 前後の pH 値、PAH の三つであることはわかっている。そこで時間ごとに、溶液内の二酸化炭素と PAH のイオンのモル濃度を調べ、発泡や膜形成に関しての検証を行うことにした。PAH は、1 つのアミノ基が付いている部分を 1unit、1mol として、解離している部分の unit ($R-NH_3^+$) をモル濃度で換算した。結果を Fig. 7, Fig.8 に示す。この図から、炭酸イオン、炭酸水素イオンは $R-NH_3^+$ に比べ非常に濃度が高いこと、また pH10 の付近で $R-NH_3^+$ の濃度が上昇していることが読み取れる。このことから、pH10 付近で、増加した $R-NH_3^+$ と存在している炭酸イオン、炭酸水素イオン同士で反応が起こり、気泡の発泡や膜形成が行われたのではないかと考えられる。

はっきりとした反応は特定できなかったが、反応に関する条件はかなり絞り込めた。今後これらの物質について実験し、考察していくことが必要である。

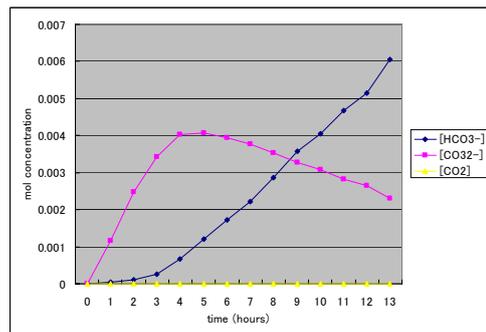


Fig 7 Mol concentration of HCO_3^- , CO_3^{2-} and CO_2 vs. time.

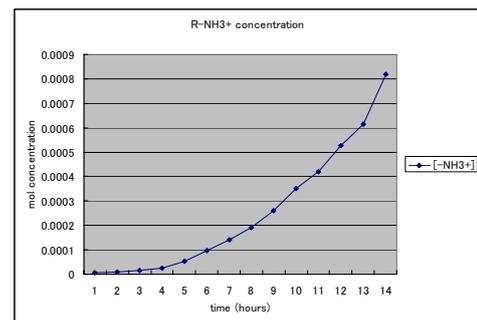


Fig 8 Mol concentration of $R-NH_3^+$ vs. time.

4. 結論

今回の研究では、塩化メチレンを用いる方法、気泡に対し自然凝集させる方法の二種類の方法を用いて、マイクロバブルを芯物質にして簡潔にカプセルを形成することに成功した。有機溶媒を用いた方法では、主に水側に溶解したポリマーを中心にカプセル形成が行われたこと、作成されたカプセルは非常に不安定であることが確認された。自然凝集による方法では、カプセル生成には二酸化炭素（そこから派生したイオン）、PAH、10 前後の pH 値が必要なことがわかった。カプセルが作成された際のモル濃度を計算すると、 $R-NH_3^+$ が $10^{-4} \sim 10^{-3}$ のオーダーに達したときに多くのカプセルが生成されている。炭酸イオン、炭酸水素イオンのオーダーが 10^{-3} のため、これらに近くなったときに PAH と炭酸イオン、炭酸水素イオンで何か反応を起こし、それがカプセル形成に起因していると考えられる。

文献

- [1] 近藤 保, マイクロカプセルその機能と応用, 日本規格協, 1991, 3
- [2] J.Bertling et al., Chem. Eng. Technol. 2004, 27, 829.
- [3] F. Caruso., Chem. Eur. J. 2000, 6, 41
- [4] Edwin Donath et al. Chem. Int. Ed. 1998, 37, 16
- [5] Dmitry Vet al, Langmuir 2004, 20, 3398