

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  
中空高分子電解質マイクロカプセルの製造に  
関する研究

2010 年 2 月 15 日提出

指導教員 大宮司 啓文 准教授 印

学生証番号 086725

松岡 英太郎

はじめに .....	3
第1章 序論 .....	4
1.1 研究背景 .....	4
1.1.1 マイクロカプセルの概要 .....	4
1.1.2 電解質高分子マイクロカプセル .....	7
1.2 目的と概要 .....	12
1.2.1 目的 .....	12
1.2.2 概要 .....	12
第2章 ガス封入中空電解質高分子マイクロカプセルの製作 .....	13
2.1 概要 .....	13
2.2 実験試薬と実験装置 .....	13
2.2.1 実験試薬 .....	13
2.2.2 実験装置 .....	15
2.3 実験方法 .....	17
2.4 結果と考察 .....	18
2.4.1 中空マイクロカプセルの作成 .....	18
2.4.2 PAH と CO <sub>2</sub> の反応 .....	20
2.4.3 コロイドとカプセルの粒径分布 .....	21
第3章 滴定による作製 .....	24
3.1 実験試薬と実験装置 .....	25
3.1.1 実験試薬 .....	25
3.1.2 実験装置 .....	25
3.2 実験結果 .....	26
3.3 各成分の濃度変化 .....	28
3.4 成分の測定 (FTIR) .....	34
3.5 反応速度 .....	37
第4章 バイレイヤーマイクロカプセルの製作 .....	47
4.1 概要 .....	47
4.2 実験試薬と装置 .....	48
4.2.1 実験試薬 .....	48
4.2.2 実験装置 .....	48
4.3 実験方法 .....	49
4.4 結果と考察 .....	51
第5章 カプセル径の調整 .....	52
5.1 概要 .....	52
5.2 実験試薬と装置 .....	53

5.2.1	実験試薬.....	53
5.2.2	実験装置.....	53
5.3	実験方法.....	54
5.4	結果と考察.....	55
第6章	結論.....	60
参考文献	.....	61

## はじめに

本研究ではマイクロバブルを利用し、ガス内包の中空高分子電解質マイクロカプセルの製造を行った。マイクロカプセルの基本的な製造手法は既に確立されているが、応用の用途によっては従来方法を改良、あるいは、新たな製造方法が必要となる。

本研究では、近年注目を集めているドラッグデリバリーシステムや超音波造影剤といった医療用途への応用を目的としたマイクロカプセルの研究を行った。

本論文は全6章における構成となっており、まず第一章で研究背景、研究目的の説明を行い、続いて第2章において本研究で行ったマイクロカプセル製造の結果と考察を行った。第3章ではカプセルが出来るための条件を調べるため、滴定による方法を提案し、大気圧下で製造した。さらにこの方法を用いて実験、計算の両方からカプセルが出来る条件を検討した。第4章においてはPAHマイクロカプセルを応用し、バイレイヤーマイクロカプセルの製造を行った。第5章ではサイズをコントロールしPAHマイクロカプセルの製造を行った。最後に第6章に本研究の結論を述べる。



# 第 1 章 序論

## 1.1 研究背景

### 1.1.1 マイクロカプセルの概要[1]-[3]

マイクロカプセルとは大きさがマイクロメートルのオーダーの微小な容器であり，容器の内容物となる芯物質と容器となる膜物質から構成される．

マイクロカプセルの特徴として主に以下の 3 点が挙げられる．

#### ① 芯物質保護

膜物質で包む事によって芯物質が外部環境さらされなくなるため，芯物質を外部環境から保護することが可能である．

#### ② 芯物質の溶解速度調整

温度や pH などの外部環境の変化や超音波を当てるなどしてカプセルを破壊することで任意のタイミングで芯物質を急速に放出させることや，時間をかけて徐々に芯物質を放出させることが可能である．

#### ③ 液体及び気体の固体粉末化

液体及び気体をマイクロカプセル化することでそれらを固体の粉末として扱うことが可能である．

このような特徴を利用してマイクロカプセルは様々な製品に用いられてきた．初めてマイクロカプセルが商品化されたのは 1950 年代で，アメリカの NCR(National Cash Resister)社がマイクロカプセルを利用した感圧複写紙を商品化した．それ以降，マイクロカプセルは香料，農薬，電子ペーパーなど幅広い分野で応用されてきており，さらに今後，薬学，バイオテクノロジー，触媒，生態学，栄養学といった様々な分野への応用が期待されている．特に近年ではドラッグデリバリーシステム（DDS）や超音波造影剤などの医薬品への応用が注目をあつめている[4-15]．

DDS は時間，場所，量をコントロールして薬剤を投与する技術であり，薬を封入したマイクロカプセルを患部付近で破壊する事により可能であると考えられている．この技術を用いる事により，患部以外に薬剤が与える影響が減るため，副作用の低減になり，薬剤の使用量を減らすことも可能となる．マイクロカプセルを DDS に用いるために必要な条件と

して、カプセル内もしくはカプセルの膜に薬剤を封入出来ること、カプセル自体が体を与える副作用が少ない事が挙げられる[16].

超音波造影剤は超音波画像診断にコントラストをつけることや特定の組織を強調して撮影するために用いられる。超音波画像診断は超音波を対象物に当て、その反響を映像化して対象物を非破壊的に画像検査法の一つである。画像診断には超音波画像診断の他にX線、MRI、PET などがあるが、その中でも超音波画像診断は被爆の心配がなく安全であること、動的に画像を取得できる点、被爆の心配が無いことから特別な施設が必要なく比較的小型であり、安価である点が挙げられる。現在、超音波造影剤としてはマイクロバブルが用いられている[17-20].

Table 1-1[21]に現在製品化されたもしくは開発中の超音波造影剤を示す。現在市販化されているものは Levovist (1999 年) と Sonazoid (2007 年) のみである。Levovist は心エコーや子宮卵巣エコー図造影剤、Sonazoid は肝臓の造影剤として用いられている。

超音波造影剤のマイクロバブルは超音波が照射されると共振・共鳴することで、2倍、3倍となった高周波（ハーモニック）を発生させる。これはつまり、2MHz の音波をマイクロバブルに照射すると、反響として 4MHz、8MHz といった高周波が返ってくる。この高周波を取り出すことでマイクロバブルを注入された血流などの鮮明なイメージングが可能となる。Levoist では高音圧の超音波を照射しなければ造影効果が薄く、高音圧を当て Levoist が崩壊するときに出すハーモニック信号を捉えて造影画像を得ていた。そのため、連続的な診断が出来なく、さらにバブルが崩壊する際に大きなエネルギーを放出するため近くに細胞に物理的に悪影響を与えることが懸念されている。一方、Sonazoid はバブルが壊れない程度のやや低い音圧でバブルを共振させて映像化するため、連続的な診断を行うことは可能であるが、感度が低い事が問題として挙げられる。このことから、連続的に鮮明な画像を得るためには、高圧の超音波を照射しても壊れない事が必要となる。このような要件を満たす超音波造影剤として、中空マイクロカプセルが注目されている。カプセル化することで、マイクロバブルに比べ安定になると考えられるためである。マイクロカプセルを超音波造影剤に用いるために必要な条件として、まず血流を乱さず、毛細血管を通り抜けることがまず求められる。毛細血管の最も細い部分で 5~10 マイクロメートルといわれており、少なくとも造影剤としてマイクロカプセルは直径 8 マイクロメートルより小さくなければならない。そして診断を行うために十分な持続性があること、カプセル自体が体を与える副作用が少ない事が挙げられる。

**Table 1-1 Ultrasonic Contrast Agent**

Name	Code Name	Manufactures	Mean Diameter	Shell Material	Gas
Albunex		Mallinckrodt (USA)	4.3 $\mu\text{m}$	modified albumin	air
Levoist	SHU-508	Schering (Germany)	2.0~4.0 $\mu\text{m}$	palmitic acid	air
Optison	FS 069	Amersham Health (USA)	3.0~4.5 $\mu\text{m}$	human serum albumin	fluorocarbon + air
Definity	MRX 115	Bristol-Myers (USA)	1.1~3.3 $\mu\text{m}$	phospholipid	fluorocarbon + air
Imagent	AFO 150	Imcor (USA)	6.0 $\mu\text{m}$	phospholipid	fluorocarbon + air
Sono Vue	BR-1	Bracco (Italia)	2.5 $\mu\text{m}$	lipid	sulfur fluoride
Sonazoid	NC 100100	Amersham Health (USA)	3.0 $\mu\text{m}$	lipid	fluorocarbon + air
Echogen	QW 3600	Abbott(USA)	3.0~5.0 $\mu\text{m}$	(surfactant)	fluorocarbon
PB 127	PB 127	Point Biomedical (USA)	4.0 $\mu\text{m}$	polymer + albumin	nitrogen
AI-700	AI-700	Acusphere (USA)	~2.2 $\mu\text{m}$	PLGA	fluorocarbon

### 1.1.2 電解質高分子マイクロカプセル

DDS や超音波造影剤として応用を考える場合、生体適合性材料を用いてマイクロカプセルを製造する必要がある。このような材料の一つとして電解質高分子（ポリエレクトロライト）を用いたマイクロカプセルが研究されてきた。電解質高分子を用いたマイクロカプセルの製造方法として、Layer-by-Layer(LbL)法が多く用いられている。Fig. 1-1 に LbL 法による中空電解質高分子マイクロカプセル製造の概念図を示す。初めに、電荷を持った芯物質を用意し、この上に逆の電荷を持った電解質高分子を吸着させる。電解質高分子は芯物質に対して過剰吸着するため、芯物質ももとの電荷とは逆の表面電荷になる。続いて一層目に吸着させた電解質高分子と逆の電荷（芯物質と同じ電荷）を持つ電解質高分子をこの上に吸着させる。この操作を何度も繰り返すことによってポリマーの膜を積み重ね、最終的に強固な膜を形成する方法である[4-13][24-27]。

この交互吸着法概念は 1966 年から始まっており、当時は基板表面に電荷を持った粒子を吸着させるといったものであった[28]。その後 1991 年に Decher らにより、吸着させる物質に高分子電解質であるポリカチオン、ポリアニオンを用いることで基板上にポリマーノのフィルムを生成する方法が行われた。その他にもポリマーだけでなく無機物質のナノ粒子、生体分子、染料など様々な物質をこの膜物質内に取り込む研究が行われた[29]。

そして 1990 年後半、この交互吸着法を用いた膜形成をマイクロカプセルの生成に利用することが試みられた[25]。これは今まで基板上に行ってきた交互吸着法を球状の芯物質に対して行うことで、芯物質に対してカプセルの膜を形成し、膜形成後、芯物質を除去することで中空のマイクロカプセルとする方法である。このカプセルの例として、膜物質ポリマーとして、アニオニックポリマーに Poly (sodium styrenesulfonate )(PAH)、カチオニックポリマーに Poly (allylamine hydrochloride)(PSS)、芯物質にメラミン-ホルムアルデヒド粒子を用いたマイクロカプセルがある。このカプセルの SEM 画像を Fig. 1-2 に示す[30]。

LbL 法によって形成された中空マイクロカプセルの特徴として、第一に容易に膜厚の制御が出来ることがあげられる。LbL 法では一層ずつ吸着させる事で作製するため、一層単位で膜厚を制御することが可能である。そのため、層の数を変える事で容易に精度の高い膜厚の制御を行う事が出来る。Caruso らによって実際にナノメートル単位での膜厚の変更が確認されている[25]。

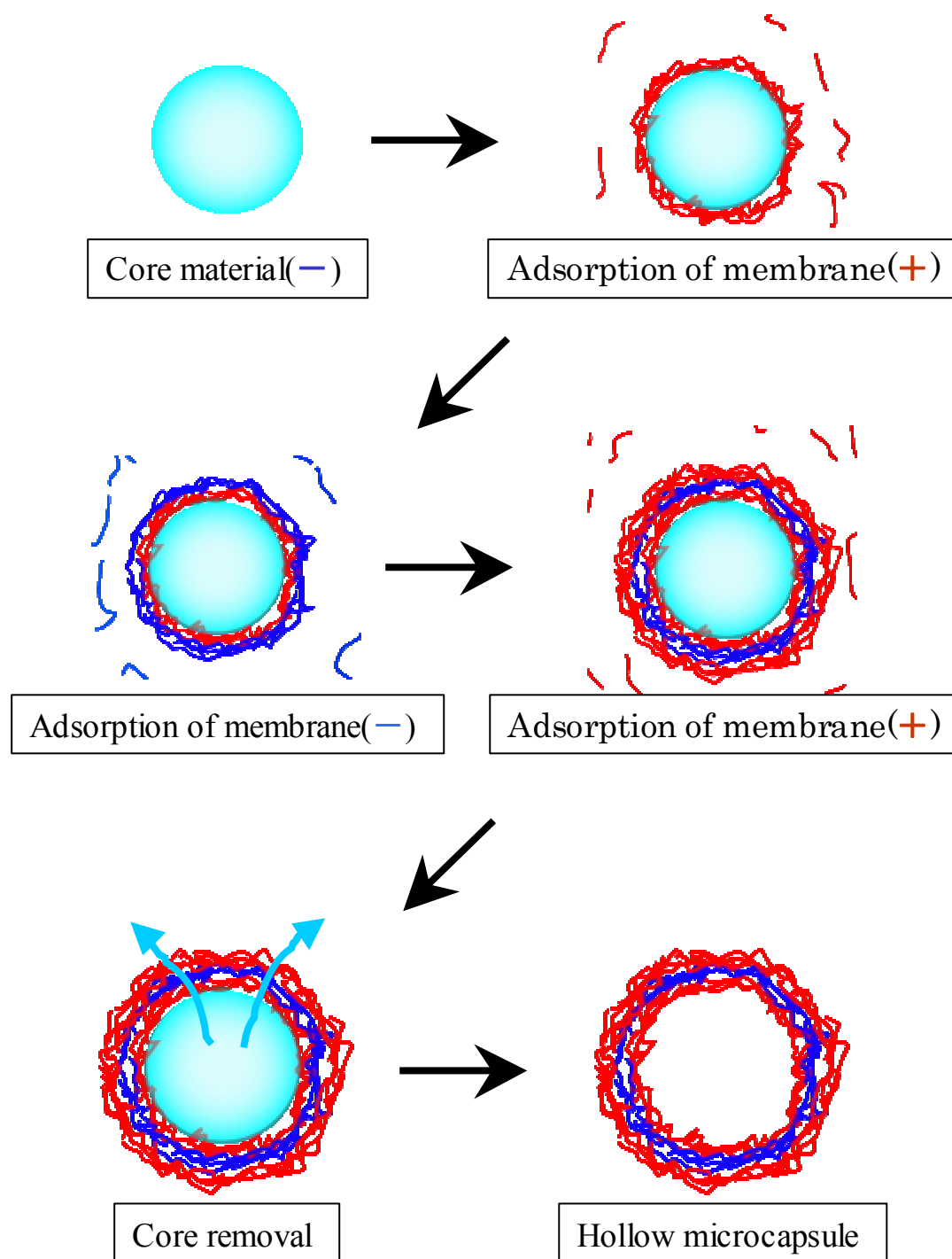
第二に透過性制御が可能である点があげられる。電解質高分子マルチレイヤーは pH や温度などの外部環境によって透過性を変えることが可能である。これは、電解質高分子は個々のモノマーが解離することによって電荷を持っており、この解離は各物質固有の解離定数と環境の pH によって決まる。pH が低いときはカチオニックポリマーが電離しやすく、アニオニックポリマーが電離しにくい。逆に pH が高いときはカチオニックポリマーが電離しにくく、アニオニックポリマーが電離しやすい。そのため、LbL 膜生成後に pH を変える事

で電荷のバランスを崩す事が出来る．これによって微小の孔が生まれるため透過性が変わる．代表的なポリマーである PAH と PSS で作成されたカプセルは，pH を酸性側に偏らせることでカプセルが膜透過性を持つことが報告されている．また pH だけではなく，塩の濃度の調整，エタノールの混入により透過性を持たせたり，膜強度を変化させることが出来る．この性質を利用することで，カプセル形成後に内部へ物質を封入すること，また外への放出のタイミングを制御することが可能となる[29-31]．

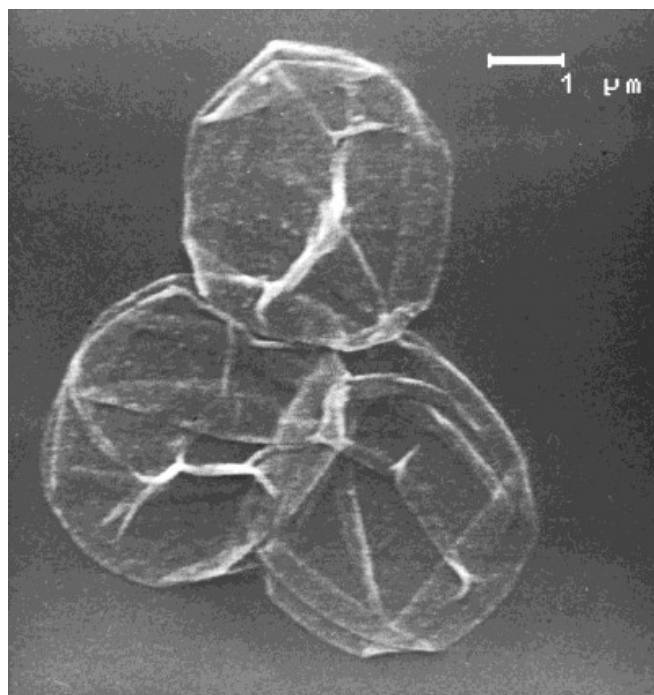
第三に使用できる物質の自由度が高い点があげられる．LbL 法は電荷を持つ様々な物質に適用できるため，使用できる芯物質及び膜物質が多岐にわたる．そのため，物質の組み合わせによって様々な性質を持ったマイクロカプセルの生成が可能となる．さらに，電解質高分子膜はガスの拡散を防ぐバリアーとしての効果があり，そのため，中空電解質高分子マイクロカプセルは超音波造影剤として使うことに適していると言える[34-36]．

一方で，LbL 法を用いて中空電解質高分子マイクロカプセルを作製する場合，芯物質を取り除く段階で膜に影響を与えてしまうため，薄膜のものではカプセル自体が壊れてしまい，たとえこの段階で壊れなかったとしても強度の低下などが考えられる．さらに，芯物質を完全に除去することは困難で，内部に残ってしまうことも問題点としてあげられる．また，従来の方法ではカプセルの内容物を固体もしくは液体にすることは可能であったが，超音波造影剤への応用として期待されるガスを内包したマイクロカプセルを製造することは難しかった．

近年になって Shchkin[26] らと Winterhalter[27]らによってマイクロバブルをテンプレートとして中空電解質高分子マイクロカプセルを作製する手法が提案された．概念図を Fig. 1-3 に示す．この方法では，初め，超音波発生装置を用いて，カチオン性の界面活性剤を溶かした水溶液中に安定なマイクロバブルが生成された．このマイクロバブルはカチオン性の界面活性剤が表面に集まっているため負の表面電荷を持つ．この負の表面電荷を持つマイクロバブルを芯物質として用い，この上にアニオン性ポリマーとカチオン性ポリマーを交互に吸着させることによってマイクロカプセルを生成する．この方法によって中空のガス内包電解質高分子マイクロカプセルを作製することが可能となったが，一方でマイクロカプセルを作るために界面活性剤が使われており，このような成分は医学，薬学への応用を考えた場合，望ましくないと考えられる．

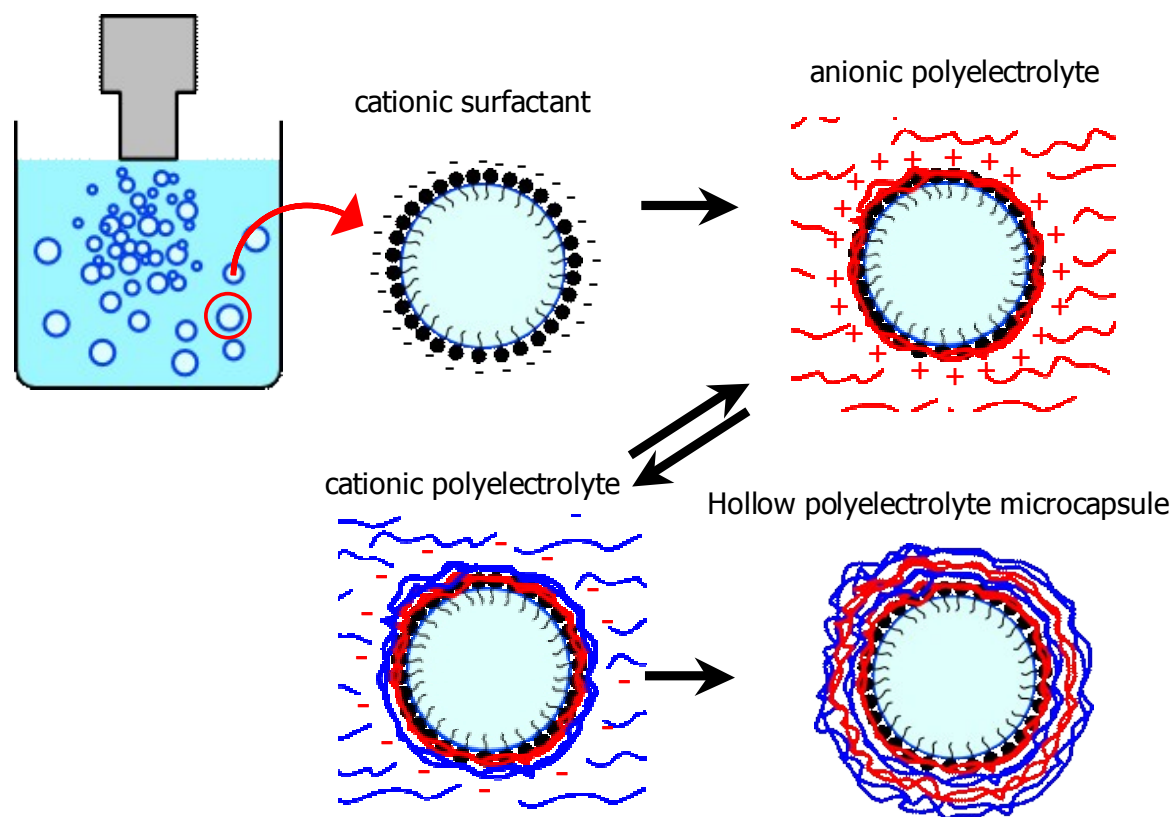


**Fig. 1-1 Fabrication procedure of polyelectrolyte microcapsule by LbL method**



**Fig. 1-2 SEM image of nine-layer polyelectrolyte shells after solubilization of the MF core**

## Ultrasound Generator



**Fig. 1-3 Fabrication procedure of hollow polyelectrolyte microcapsule from surfactant microbubble template**



## 1.2 目的と概要

### 1.2.1 目的

マイクロバブルをテンプレートとした中空電解質高分子マイクロカプセルの作成方法では界面活性剤を用いなければならず、医療用途への応用を考えた場合、人体への影響が危惧される。

そこで本研究では、医療への応用、特に超音波造影剤への応用を考え、マイクロバブルをテンプレートにして電解質高分子マイクロカプセルを界面活性剤などの余分な成分を用いずに製造すること、その後作成されたカプセルの分析と、その形成過程を明らかにすることを目的とした。その後、さらにカプセルを LbL マイクロカプセルの芯材料として使うことで、さらに安定性の高いマイクロカプセルを製造すること、カプセルのサイズに影響を与えるパラメータを特定し、大きさが均一なカプセルを作ることを目的とした。

### 1.2.2 概要

本実験において提案された手法は以下の通りである。

- (a) 1.0mg/ml の PAH 水溶液を用意し、この水溶液を 1M 水酸化ナトリウム水溶液を用いて pH12.0 に調整した。
- (b) (a)で作製した水溶液を数分間、二酸化炭素で 300kPa に加圧した。
- (c) PAH のコロイドが生成されたことにより水溶液が透明の状態から白濁の状態へ遷移するので、このときマイクロバブルを発生させるために大気開放した。この PAH コロイドがマイクロバブル表面に吸着することによって PAH マイクロカプセルが生成された。

PAH と CO<sub>2</sub> の反応を確認するために、同じ実験手順で CO<sub>2</sub> を N<sub>2</sub> に変えて実験を行った。また、PAH コロイド、中空マイクロカプセルの大きさは動的光散乱 (Dynamic light Scattering, DLS) と顕微鏡を用いて測定された。

同様の中空 PAH マイクロカプセルは PAH を含んだ炭酸ナトリウム水溶液を塩酸で滴定することによって大気圧力で得られた。さらに、コロイド粒子とコロイド粒子生成に至る水溶液の組成状況を確認するために、滴定曲線と計算によって求められた組成 vs. pH 曲線が求められた。組成を実験的に確認するため、Fourier transform Infra Red (FTIR) を用いて測定が行われた。FTIR の結果と計算から得られた組成の違いを反応速度に着目して考察した。中空 PAH マイクロカプセルに PSS を吸着させることによってバイレイヤーマイクロカプセルを製作した。また PAH 濃度を変える事で大きさをコントロールしてマイクロカプセルを製造した。

## 第2章 ガス封入中空電解質高分子マイクロカプセルの製作

### 2.1 概要

第一章で述べたように従来方法では、界面活性剤を用いてガス封入中空電解質高分子マイクロカプセルを製作していたが、本研究では界面活性剤を用いずに作製したのでその結果と考察を本章で述べる。

2.2 では使用した試薬、実験装置、観察・測定装置、2.3 において本実験で行ったカプセルの作製方法、2.4 に実験結果を示し、2.5 に考察を述べる。

### 2.2 実験試薬と実験装置

#### 2.2.1 実験試薬

本研究では、電解質高分子膜材料として Poly(allylamine hydrochloride)(PAH)(Mw: ca. 56,000)(Sigma-Aldrich, US)が用いられた。PAH の構造を Fig. 2-1 に示す。PAH は炭素の錯体にアミノ基がついている構造をしており、このアミノ基の部分が水素イオンと結びつくことによって+の電荷を帯びる。ポリマーの解離定数  $K_a$  は 8.6 であり、アルカリ性の環境では解離を起こさずニュートラルな状態となる[11]。

蛍光顕微鏡観察を行うために Poly(fluorescein isothiocyanate allylamine hydrochloride)(FITC-PAH)(Mw: ca. 56,000)(Sigma-Aldrich, US)が用いられた。FITC-PAH の構造を Fig. 2-2 に示す。FITC-PAH は PAH に蛍光物質である fluorescein isothiocyanate が化学的に結合している物質である。これは励起波長  $\lambda_{em} = 495 \text{ nm}$  の青色の光を吸収し、520 nm の緑色の光を発生させる蛍光剤である。蛍光観察を行う際は PAH を FITC-PAH に置き換えてカプセル形成を行った。

pH 調整には 1 M 水酸化ナトリウム水溶液(Wako, Japan), 1 M 塩酸(Wako, Japan), 炭酸ナトリウム(Wako, Japan)が用いられた。pH 標準液にはしゅう酸塩標準液(pH 1.68) (東興化学研究所, Japan), フタル酸塩標準液(pH 4.01)(Wako, Japan), 中性リン酸塩標準液(pH 6.86)(Wako, Japan), ほう酸塩標準液(pH 9.18)(Wako, Japan), 水酸化カルシウム標準液(pH 12.45)(EUTECH INSTRUMENTS,US)を用いた。本実験において使用した水は全て Milli-Q Advantage A10 water purification system から得ており、18.2 M $\Omega$  程度の抵抗を持つ超純水である。

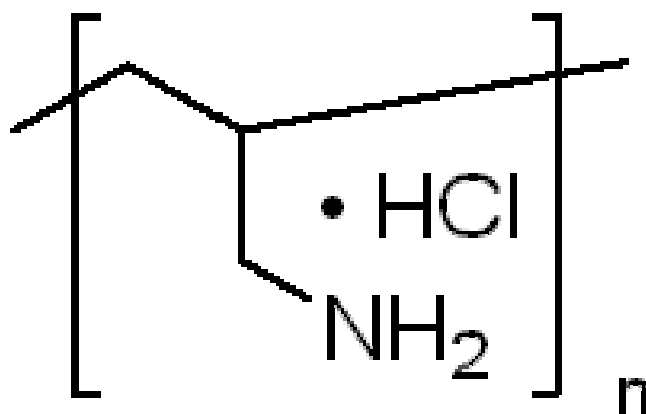


Fig. 2-1 Structure of Poly (allylamine hydrochloride).

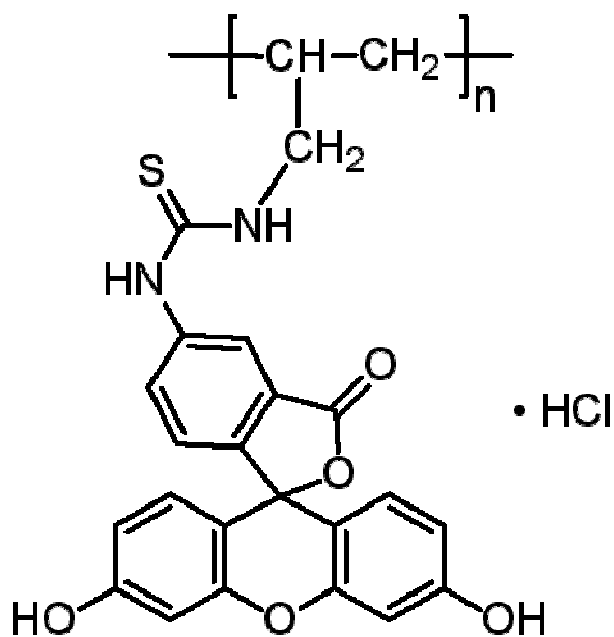
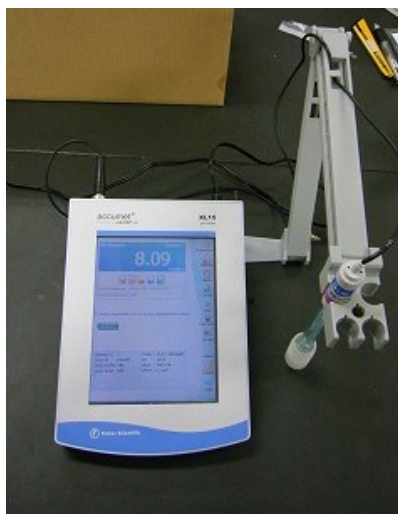


Fig. 2-2 Structure of Poly (fluorescein isothiocyanate allylamine hydrochloride)

### 2.2.2 実験装置

攪拌にはホットスターラー REXIM RSH-1D (AS ONE, Japan) が用いられた。試薬の分量を量る電子天秤には LIBROR AEG-320 (SHIMADZU, Japan)が用いられた。PH の測定には accumet Excel XL15 pH/mV/Temperature Meter(Fisher Scientific, US)が用いられた(Fig. 2-3)

粒子径の測定には動的光散乱(Dynamic Light Scattering, DLS)測定装置(Zetasizer Nano S, Malvern Instruments Ltd, UK)が用いられた。(Fig. 2-4)



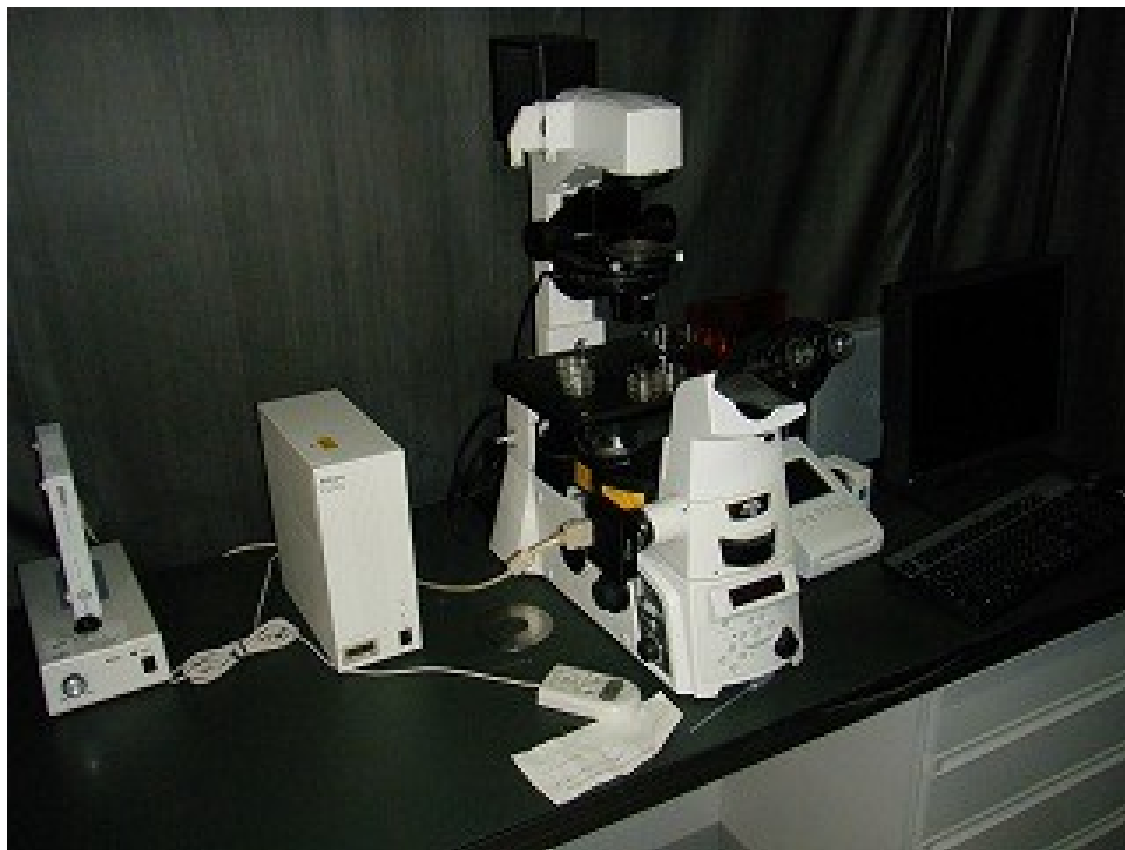
**Fig. 2-3 accumet Excel XL15 pH/mV/Temperature Meter**



**Fig. 2-4 Zetasizer Nano S** (ZS 製品パンフレット

[http://www.malvern.jp/common/downloads/MRK496-02\\_ZetZSL\\_RA4.pdf](http://www.malvern.jp/common/downloads/MRK496-02_ZetZSL_RA4.pdf)より引用)

明視野・蛍光顕微鏡観察には倒立顕微鏡(Eclipse Ti-E, Nikon Corporation, Japan)が用いられた. (Fig. 2-5)



**Fig. 2-5 Eclipse Ti-E**

### 2.3 実験方法

本実験において提案された手法は以下の通りである.

- (a) 1.0 mg/ml の PAH 水溶液を用意し, この水溶液を 1 M 水酸化ナトリウム水溶液を用いて pH=12.0 に調整した.
- (b) (a) で作製した水溶液を数分間, 二酸化炭素で 300 kPa に加圧した.
- (c) PAH のコロイドが生成されたことにより水溶液が透明の状態から白濁の状態へ遷移するので, このときマイクロバブルを発生させるために大気開放した. この PAH コロイドがマイクロバブル表面に吸着することによって PAH マイクロカプセルが生成された.

PAH と  $\text{CO}_2$  の反応を確認するために, 同じ実験手順で  $\text{CO}_2$  を  $\text{N}_2$  に変えて実験を行った. また, PAH コロイド, 中空マイクロカプセルの大きさは DLS と顕微鏡を用いて測定された.

## 2.4 結果と考察

### 2.4.1 中空マイクロカプセルの作成

Fig. 2-6 に中空 PAH マイクロカプセルの作製手順の概念図を示す. (a) まず 1.0 mg/ml の PAH 水溶液を用意し, この水溶液を 1 M 水酸化ナトリウム水溶液を用いて pH=12.0 に調整した. この時点の水溶液は透明であった. (b) この水溶液を二酸化炭素で 300 kPa に加圧した. 始めのうちは(a)同様, 透明の水溶液が得られた. (c) 数分間加圧したのち水溶液とガスの界面から水溶液が白濁し始めた. (d) 全体が白濁した後もさらに加圧し続けると水溶液は再び透明に戻った. Fig. 2-7 に実際の水溶液の様子を示す.

加圧中に白濁したことから, 白濁の原因はバブルなどによるものではなく, 溶液になにかしらの反応が起きたためだと考えられ, この反応は, 水溶液とガスの界面から生じていることから PAH と二酸化炭素が反応しカルバメートを生成しているのだと考えられる.

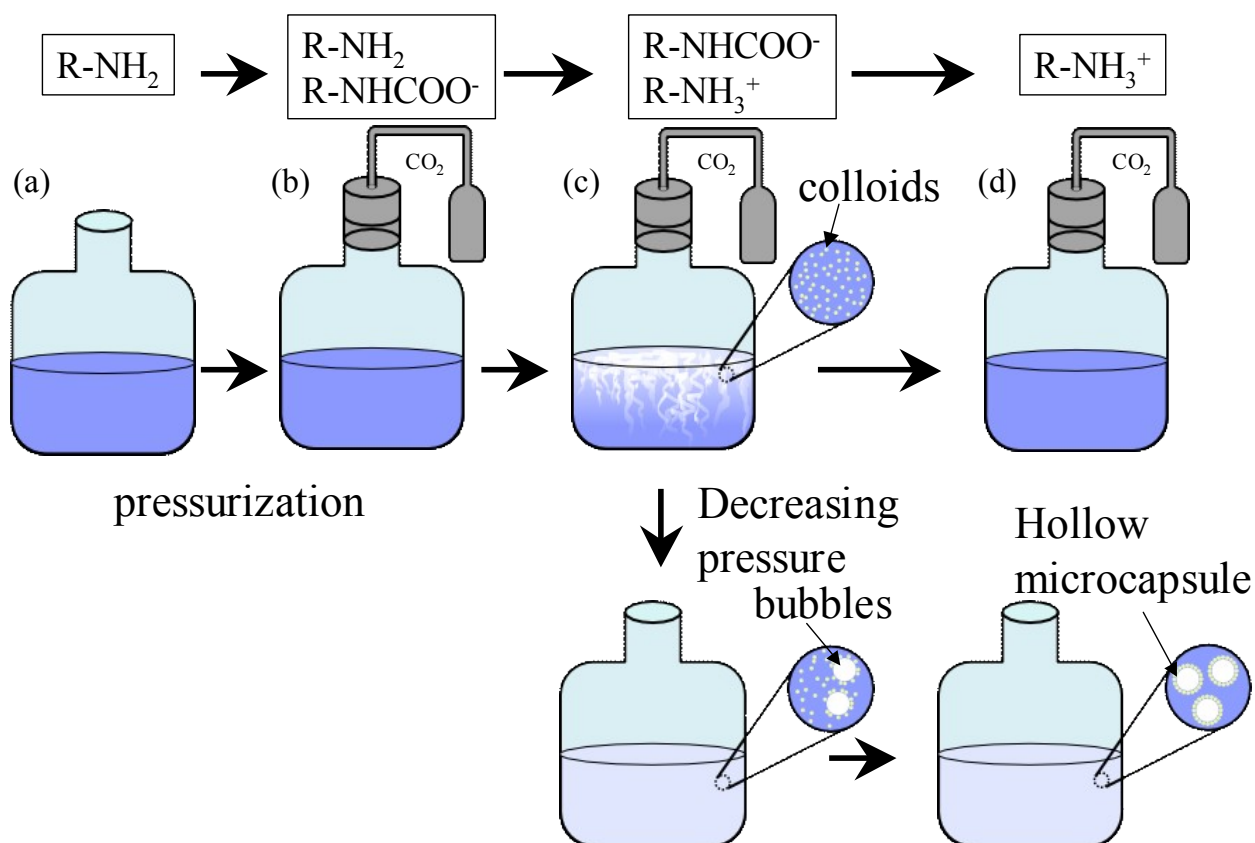
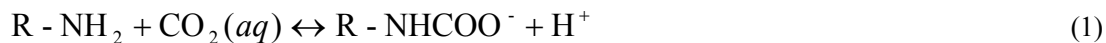


Fig. 2-6 Fabrication procedure of hollow PAH microcapsule.

PAH と二酸化炭素が反応する場合、以下の式のように反応が起こると考えられる[37].



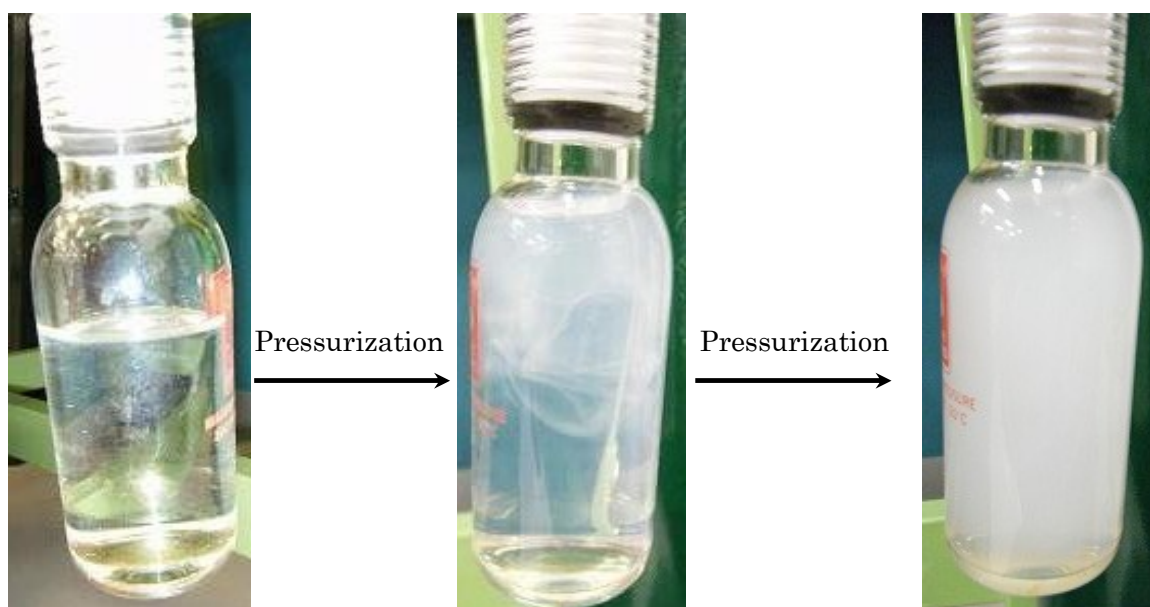
この反応の酸解離定数を常用対数で表すと  $\text{p}K_{\text{a}1} = 4.8$  であると報告されている[37].

また、PAH の平衡状態は水溶液中で以下の式に従う[38].



式 2 における酸解離定数を常用対数で表すと  $\text{p}K_{\text{a}2} = 8.7$  であると報告されている[11].

式 1 及び 2 より、PAH 水溶液が二酸化炭素を吸収する事によって負の電荷を持つ  $\text{R} - \text{NHCOO}^-$  と正の電荷を持つ  $\text{R} - \text{NH}_3^+$  が共存することが考えられる。  $\text{R} - \text{NH}_2$ 、  $\text{R} - \text{NH}_3^+$  は通常全て水に溶けているが、  $\text{R} - \text{NH}_3^+$  と  $\text{R} - \text{NHCOO}^-$  が水溶液中に共存するとき、この二つの状態の違う PAH が電氣的相互作用によってコロイドを形成することが可能となる。その結果、溶液が白濁したと考えられる。



**Fig. 2-7 Picture image of PAH solution change by CO<sub>2</sub> pressurization.**



また、一度白濁した後に再度透明な状態に戻る理由としては、水溶液が二酸化炭素を吸収したことによる pH 変化による影響が考えられる。

二酸化炭素が水溶液中に溶けた時、平衡状態は以下の式に従う。



式 3 及び 4 における酸解離定数を負の常用対数で表すとそれぞれ  $\text{p}K_{\text{a}3} = 6.352$ ,  $\text{p}K_{\text{a}4} = 10.329$  である。式 3 及び 4 より、二酸化炭素が水中に溶けた場合、水と反応し  $\text{H}^+$  を出すため、二酸化炭素が溶ければ溶けるほど水溶液の pH が下がる。

水溶液が白濁している最中に水溶液を大気圧まで減圧すると、水溶液中にマイクロバブルを発生させることが出来る。この水溶液を顕微鏡で観察すると非常に安定なマイクロバブルが観察された。これは水溶液中に発生したマイクロバブルがコロイド状の PAH によって包まれることによって安定化したのであると考えられる。これは、水溶液中でピッカリングエマルジョンという現象が起こっており、そのためマイクロカプセルが安定したのだと考えられるためである。ピッカリングエマルジョンとはコロイドのような微小粒子が存在する水溶液中に、油のような互いに混ざらない物質が混入された場合、この油の回りにコロイドが吸着して安定なエマルジョンを形成する現象である。この現象によって、水溶液中に発生したマイクロバブルが安定化したのだと考えられる。

以上のことから、PAH と  $\text{CO}_2$  の反応によって PAH のコロイドが発生し、その後、大気圧まで減圧することで、水溶液中にマイクロバブルが発生し、このマイクロバブルを PAH のコロイドが包む事によってマイクロカプセル化し、安定な状態へとなるのだと考えられる。

#### 2.4.2 PAH と $\text{CO}_2$ の反応

$\text{CO}_2$  ガスによる加圧がマイクロカプセルを作成するために必要な条件かを確認するために、Fig. 2-1 と同様の実験を  $\text{CO}_2$  ガスの代わりに  $\text{N}_2$  ガスを用いて行った。PAH 水溶液の初期 pH は 12.0, 8.6, 4.0 の三種類に調整したものを用いた。 $\text{N}_2$  ガスを用いて加圧した結果、pH 変化が無く、白濁も起こらなかった。圧力を大気圧まで下げたとき、水溶液中にバブルが生じたが、溶解中の PAH ではバブルを包む事は出来ないため、バブルはすぐに消滅した。この実験結果から PAH は  $\text{CO}_2$  と反応しているため、 $\text{CO}_2$  が無ければどのような pH 帯においても PAH 水溶液は白濁しないと考えられる。

### 2.4.3 コロイドとカプセルの粒径分布

PAH コロイド及び中空マイクロカプセルの大きさを特定するため、DLS 測定が行われた。

DLS 測定は、粒子のブラウン運動の大きさから分子を測定する測定方法である。粒子のブラウン運動は熱運動によって引き起こされる。溶液中の粒子と溶媒分子がランダムに衝突することで、ランダムな移動をし、これによって溶液中に拡散していく。この運動による粒子の速度は、粒子の大きさに反比例し、粒子が大きくなるほど遅くなる。このため、温度及び粘度が一定の水溶液中では、粒子の拡散の速度つまり拡散係数  $D$  は式 5 に示すアインシュタイン・ストークスの式に示されるように粒子系と反比例する関係にある。

$$D = \frac{K_B T}{3\pi\eta d} \quad (5)$$

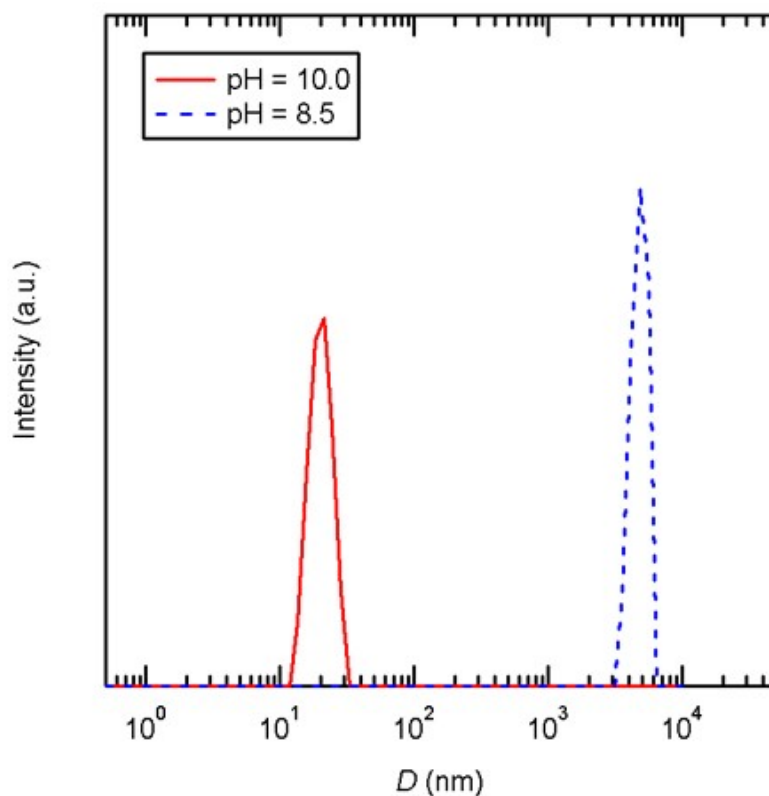
ここで  $K_B$ ,  $T$ ,  $\eta$ ,  $d$  はそれぞれボルツマン係数、溶液の粘度、粒子直径である。

動的光散乱法ではブラウン運動中の粒子に、レーザ光を当て散乱光を光電子増倍管(PMT)で検出することにより測定を行う。粒子により散乱された光は、互いに重なり合い干渉パターンを形成する。PMT で検出される光の強度は、その干渉パターンにより決まる。溶液中の粒子がブラウン運動によって運動し、位置が変わることで、干渉パターンが時間的に変化する。これによって検出器の高強度が時間的に変動する。この時間変化から自己相関関数を求めると、大きい粒子では時間変化が少ないため大きな自己相関関数が得られ、逆に小さい粒子では時間変化が大きいため、自己相関関数も大きく下がる。この減衰曲線から粒子径が求められる。

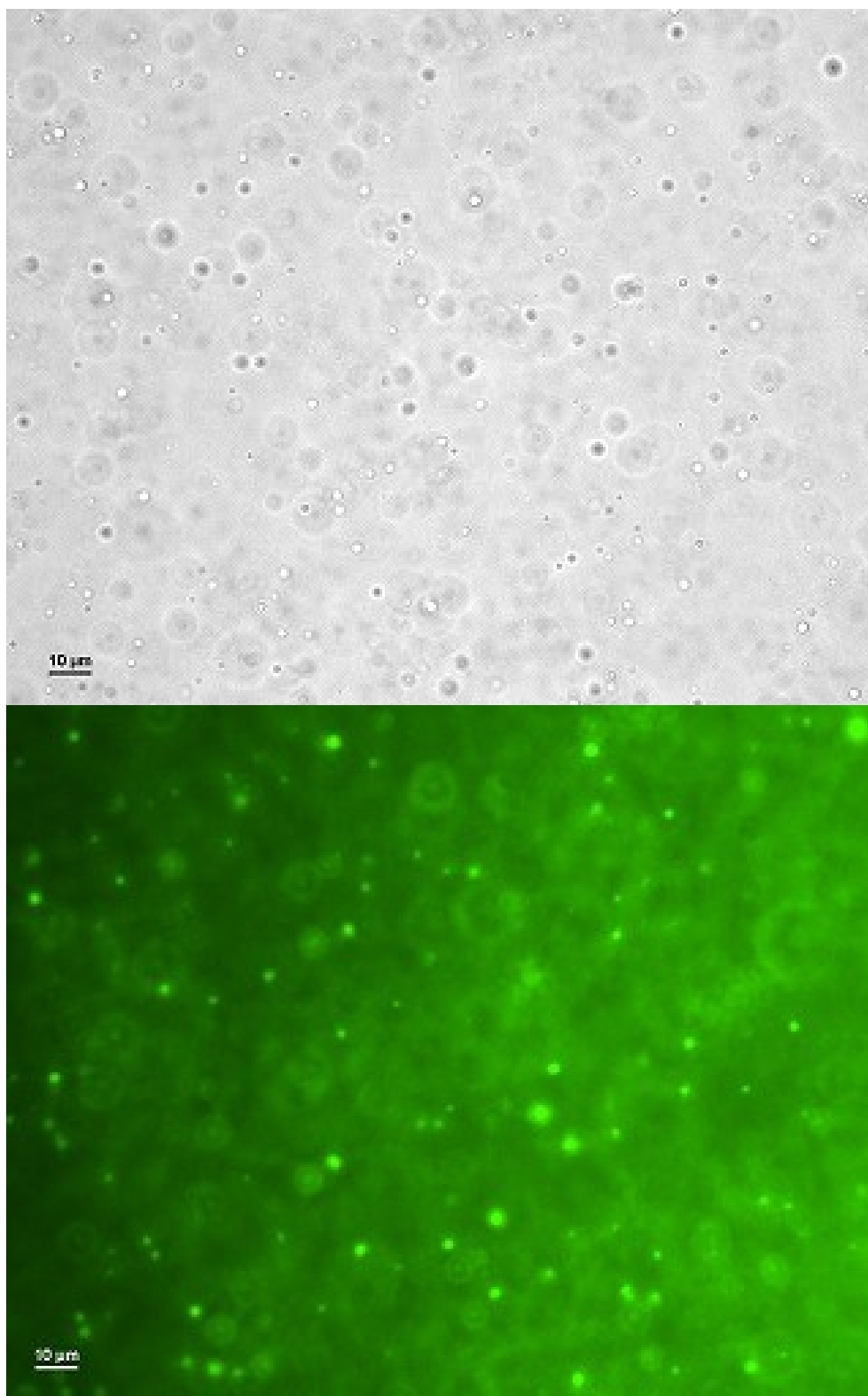
Fig. 2-8 に DLS から得られた 2 種類の pH 値の異なる PAH 水溶液から得られたの粒径分布を示す。水溶液はどちらも Fig. 2-6 に示す方法で、CO<sub>2</sub> での加圧時間のみの変えたものが用意された。用意された水溶液は pH 値がそれぞれ 10.0 と 8.5 であった。pH 値が 10.0 の水溶液は透明であったが、pH 値 8.5 の水溶液は白濁していた。pH=10.0 における平均直径は約 20 nm、一方、pH=8.5 における平均直径は 4  $\mu$ m であった。以上の結果から、PAH 分子は pH=10.0 においてコロイドを生成するが、濃度が非常に低いため溶液は透明のままであったと考えられる。これに対して pH=8.5 において PAH は CO<sub>2</sub> ガスをカプセル化すること出来、水溶液も白濁した。以上の結果は PAH コロイドの平均直径は約 20nm であり、中空 PAH マイクロカプセルの平均直径は約 4  $\mu$ m である事を示していると考えられる。

pH=8.5 における中空マイクロカプセルの画像は顕微鏡観察によって得られた。Fig. 2-9 に中空マイクロカプセルの明視野及び蛍光顕微鏡画像を示す。この実験において、PAH と FITC-PAH を混合したもの（混合重量比 PAH:FITC-PAH=100:1）が PAH の代わりに用いられた。これらの画像は微小な球体を示しており、蛍光顕微鏡画像は PAH が微小球体に集まっている事を示している。カプセルのサイズが非常に均一である事から、水溶液中に発生

した二酸化炭素のマイクロバブルは他のマイクロバブルと結合する前に PAH によって覆われたのだと考えられる。PAH の濃度もしくは PAH コロイドの輸送を制御することによってマイクロカプセルの大きさを制御することが可能であると考えられる。PAH 濃度によるカプセル径の調整は第 5 章で詳しく述べる。



**Fig. 2-8 Diameter distribution of 1.0 mg/ml PAH aqueous solutions containing CO<sub>2</sub> at two different pHs: pH=1.0 and 8.5.**



**Fig. 2-9 Bright-field (top) and epifluorescence (bottom) images of hollow PAH microcapsules. The pH of the solution is 8.5.**

### 第3章 滴定による作製

#### 概要

第2章で製造したマイクロカプセルは  $\text{CO}_2$  ガスの圧力をかけて製造するため、減圧しない状態では pH などの測定は行えない。そのため、条件を揃えた作製または定量的な評価を行う事が困難であった。そこで本章では、第2章で製造したマイクロカプセルと同様の中空マイクロカプセルを大気圧力で製造した。大気圧力で  $\text{CO}_2$  マイクロバブルを発生させるために、PAH を含んだ炭酸ナトリウム水溶液を塩酸で滴定することで水溶液中に二酸化炭素を発生させた。

本章では滴定によって作製する方法に対して、計算によってどのような組成でマイクロカプセルが発生するのかを明らかにした。さらに実験的に確認するため FTIR を用いて成分の測定を行った。また、高 pH 域において計算によって求めた組成と FTIR から得られた成分に違いが現れたので、反応速度に注目して考察をした。

### 3.1 実験試薬と実験装置

#### 3.1.1 実験試薬

電解質高分子膜材料には第 2 章でも使用した PAH, 蛍光顕微鏡観察用に FITC-PAH が用いられた. pH 調整には 1 M 塩酸, 炭酸ナトリウム(Wako, Japan)が用いられた. pH 標準液にはしゅう酸塩標準液(pH 1.68), フタル酸塩標準液(pH 4.01), 中性リン酸塩標準液(pH 6.86), ほう酸塩標準液(pH 9.18), 水酸化カルシウム標準液(pH 12.45)を用いた. 水には Milli-Q Advantage A10 water purification system から得た 18.2 M $\Omega$  程度の抵抗を持つ超純水を使用した.

#### 3.1.2 実験装置

攪拌にはホットスターラー REXIM RSH-1D (AS ONE, Japan) が用いられた. 試薬の分量を量る電子天秤には LIBROR AEG-320 (SHIMADZU, Japan)が用いられた. PH の測定には accumet Excel XL15 pH/mV/Temperature Meter(Fisher Scientific, US)が用いられた. 明視野・蛍光顕微鏡観察には倒立顕微鏡(Eclipse Ti-E, Nikon Corporation, Japan)が用いられた.

成分の測定のために FTIR 分光器(Nicolet 6700 FTIR, Thermo Scientific, US)に FT-IR スマートアクセサリの一回反射型ダイヤモンド ATR(attenuated total reflectance)を組み合わせ FTIR 測定が行われた. (Fig. 3-1)



Fig. 3-1 Nicolet 6700 FTIR (Thermo Scientific 社 HP より引用  
<http://www.thermoscientific.jp/ft-ir-raman/nicolet-6700.html>)

### 3.2 実験結果

PAH を含んだ炭酸ナトリウム水溶液を塩酸で滴定することで、大気圧下において PAH 水溶液中に  $\text{CO}_2$  マイクロバブルを発生させることが可能であると考え以下の実験を行った。Fig. 3-1 に実験方法の概念図を示す。初めに、PAH を含んだ 0.054 M 炭酸ナトリウム水溶液が用意された。PAH の濃度は 1.0 mg/ml に調整され、pH 値は 11.0 であった。次にこの水溶液 100 ml に対して 1 M 塩酸を用いて滴定した。塩酸を滴定していくと、pH=9 付近で溶液全体が白く濁り始めた。ここでさらに塩酸を滴定していくと、pH=7.5 を下回った辺りで溶液は再び透明に戻った。

溶液が白濁している状態で観察すると、二酸化炭素を加圧することによって得られたマイクロカプセルと同様のマイクロカプセルが観察された。Fig. 3-2 に滴定によって観察されたマイクロカプセルの明視野および蛍光顕微鏡画像を示す。形や大きさ、振る舞いなどから二酸化炭素で加圧することによって作製したものと同等のものが出来たと考えられる。

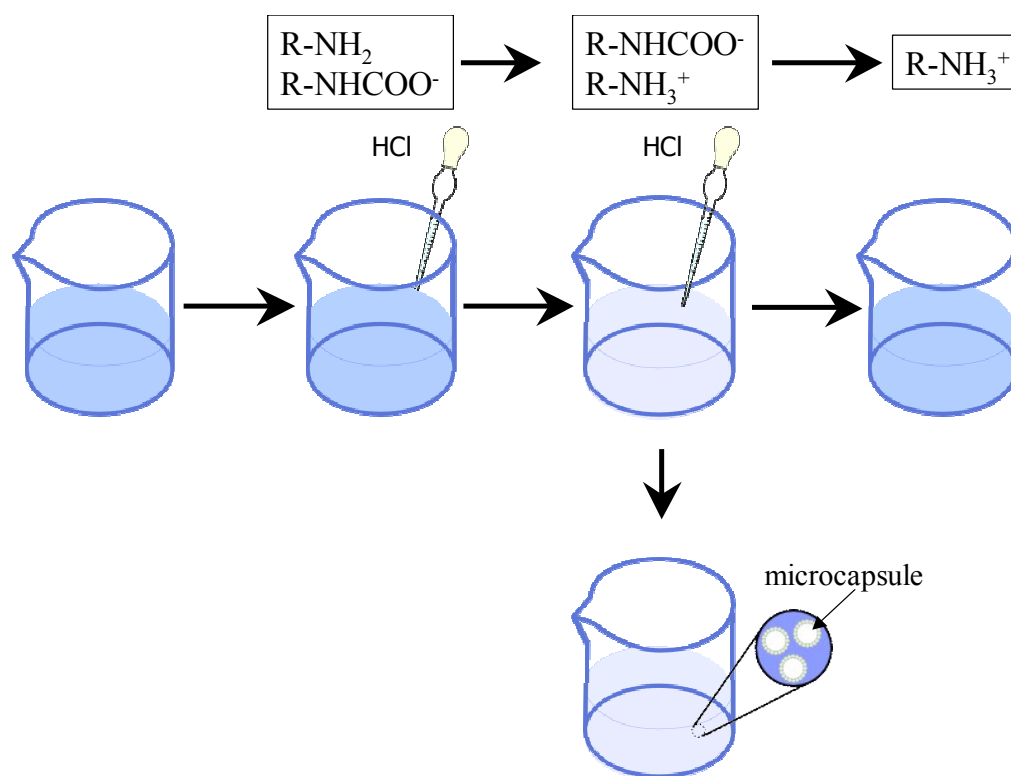
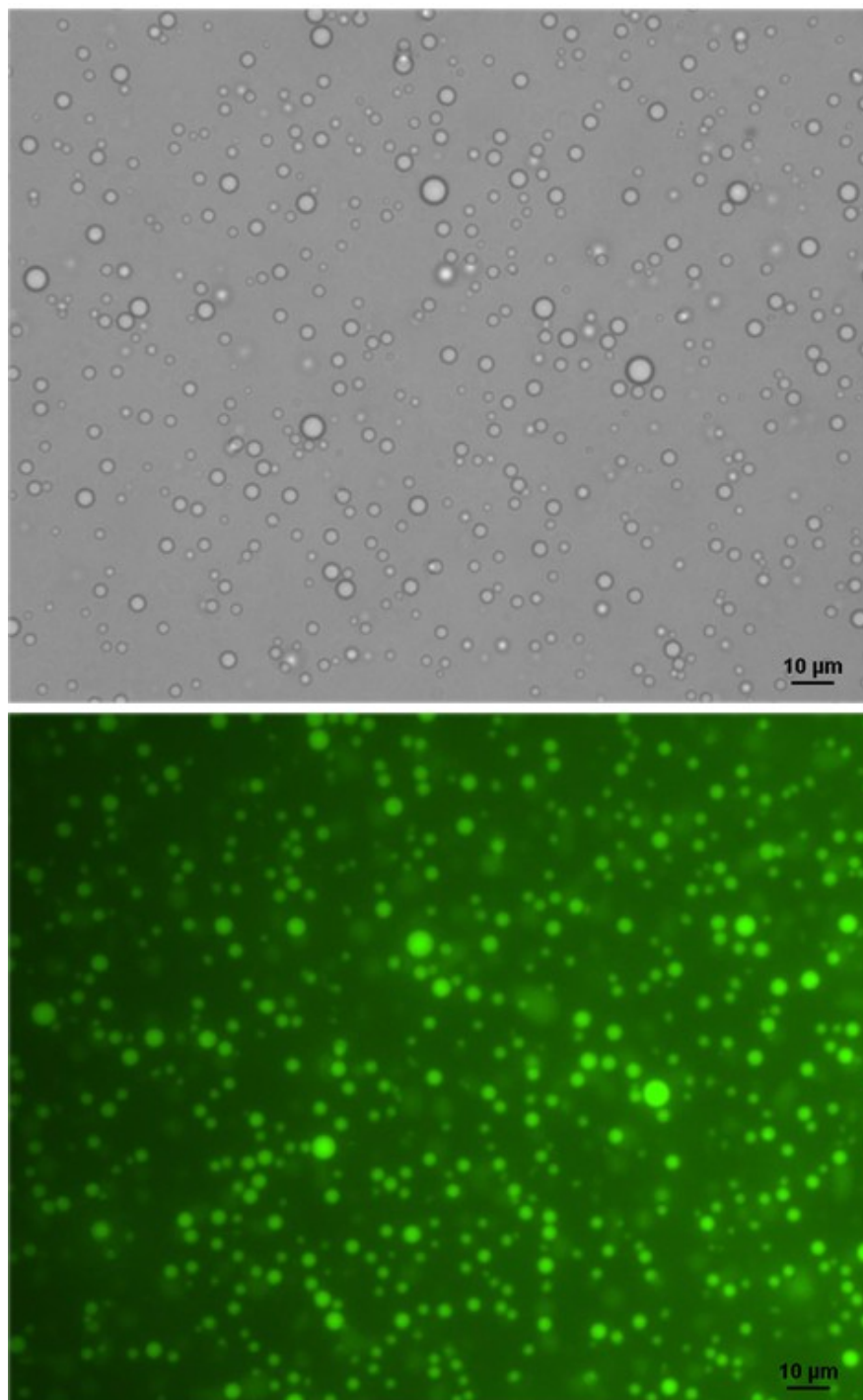


Fig. 3-2 Fabrication procedure of hollow PAH microcapsule by titration method.



**Fig. 3-3 Bright-field (top) and epifluorescence (bottom) images of hollow PAH microcapsules by titration method. The pH of the solution is 8.5.**



### 3.3 各成分の濃度変化

第2章でも述べたように、 $R-NH_3^+$ と $R-NHCOO^-$ が電気的に反応したことによって PAH のコロイドが水溶液中に発生したと考えられる。このコロイドがどのような状態で発生するのかを確認するために、水溶液中のイオン濃度の変化を調べる必要がある。そのため、計算によってどのようなイオン濃度の変化が起こっているかを求めた。

水溶液中へ溶かされた分子は自身の解離度と環境の pH 値によって解離する割合が決定される。解離することで pH 値に影響を与える分子の場合でも、pH 値と解離がお互いに変化し最終的に平衡状態が一意に決まる。複数の分子が混在している場合は、それぞれの解離度に沿った割合で解離し、混合されている分子間で反応などが生じる場合は、この分子間の反応を考慮することで一意に決定できる。

本実験のように炭酸ナトリウム水溶液に PAH が混入されている場合、炭酸ナトリウムと PAH それぞれの解離と、この二つが反応し  $R-NHCOO^-$  を生成する反応を考える必要がある。

PAH と炭酸ナトリウムの反応は式 1 と同様に示すことが出来る。PAH の解離は式 2、炭酸ナトリウムの解離は二酸化炭素の解離と同様と考えることが出来るので、式 3、式 4 となる。

それぞれの解離度を式で以下のように表す事が出来る。

$$K_1 = \frac{[R-NHCOO^-][H^+]}{[R-NH_2][CO_2(aq)]} \quad (6)$$

$$K_2 = \frac{[R-NH_2][H^+]}{[R-NH_3^+]} \quad (7)$$

$$K_3 = \frac{[HCO_3^-][H^+]}{[CO_2(aq)]} \quad (8)$$

$$K_4 = \frac{[CO_3^{2-}][H^+]}{[HCO_3^-]} \quad (9)$$

□で囲まれたものは、それぞれのモル濃度を表しており、 $K_n = 10^{-pK_n}$  である。

水溶液中の PAH 合計の濃度を  $[PAH]$ , 炭酸ナトリウム合計の濃度を  $[CO_2]$  とすると以下のように表せる.

$$[PAH] = [R - NH_2] + [R - NH_3^+] + [R - NHCOO^-] \quad (10)$$

$$[CO_2] = [CO_2(aq)] + [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}] + [R - NHCOO^-] \quad (11)$$

水溶液中は電氣的に中性であるため, 陽イオンと陰イオンの総和は等しくなるため, 以下のように表せる.

$$\begin{aligned} & [H^+] + [Na^+] + [R - NH_3^+] \\ &= [HCO_3^-] + 2[CO_3^{2-}] + [R - NHCOO^-] + [OH^-] + [Cl^-(PAH)] + [Cl^-(HCl)] \end{aligned} \quad (12)$$

ここで  $[Cl^-(PAH)]$  は PAH に含まれる塩化物イオンの濃度で  $[PAH]$  と等しい.

$[Cl^-(HCl)]$  は滴下した塩酸に含まれる塩化物イオンである. この塩化物イオンの総量は塩酸の滴下量に比例して増えるので, 塩酸の体積を  $dV$ , 濃度を  $\alpha$  とすると以下のように示す事が出来る.

$$Cl^-_{HCl} = \alpha dV \quad (13)$$

また, 滴定を行う前の体積を  $V_0$  とすると, 滴定後の溶液全体の体積  $V$  は

$$V = V_0 + dV \quad (14)$$

となる.

また, 全体の体積は以下のようにも表すことが可能である.

$$V = \frac{PAH}{[PAH]} \quad (15)$$

ここで  $[\ ]$  のない  $PAH$  はモル量を表している.

式 12～14 より， $[Cl^-(HCl)]$ は以下のように示す事が出来る．

$$[Cl^-(HCl)] = \alpha - \alpha \frac{V_0}{PAH} [PAH] \quad (16)$$

$[Na^+]$ は炭酸ナトリウムの総量の 2 倍となるので，

$$[Na^+] = 2[CO_2] \quad (17)$$

となる．

$[H^+]$ ， $[OH^-]$ は pH の関数となるので，pH，炭酸ナトリウム総量，PAH の総量，塩酸滴下前の体積を定数とすると以上の式を用いて以下の式が導出出来る．

$$\begin{aligned} 0 = & \left\{ (1 + C_3) K_5^2 CO_2 \left( \frac{K_2}{[H^+]} + 1 \right) - K_5^2 (PAH - CO_2) \right\} [R - NH_3^+]^2 \\ & + \left\{ \left( \frac{K_2}{[H^+]} + 1 \right) C_4 K_5 CO_2 - C_1 [H^+] K_5 PAH - (C_2 K_5 PAH - C_2 K_5 CO_2) \right\} [R - NH_3^+] \\ & - C_2 C_1 [H^+] PAH \end{aligned} \quad (18)$$

ここで， $K_5$ ， $C_1$ ， $C_2$ ， $C_3$ ， $C_4$ はそれぞれ以下に示す通りである．

$$\begin{aligned} K_5 &= K_1 \frac{K_3}{K_2} \\ C_1 &= \left( \frac{[H^+]}{K_3} + 1 + \frac{K_4}{[H^+]} \right) \\ C_2 &= K_5 \left( [H^+] - \frac{10^{-14}}{[H^+]} - \alpha \right) \\ C_3 &= \left( \frac{PAH - \alpha V_0}{CO_2} - 2 \right) \\ C_4 &= ([H^+] + 2K_4 + C_1 C_3 [H^+]) \end{aligned}$$

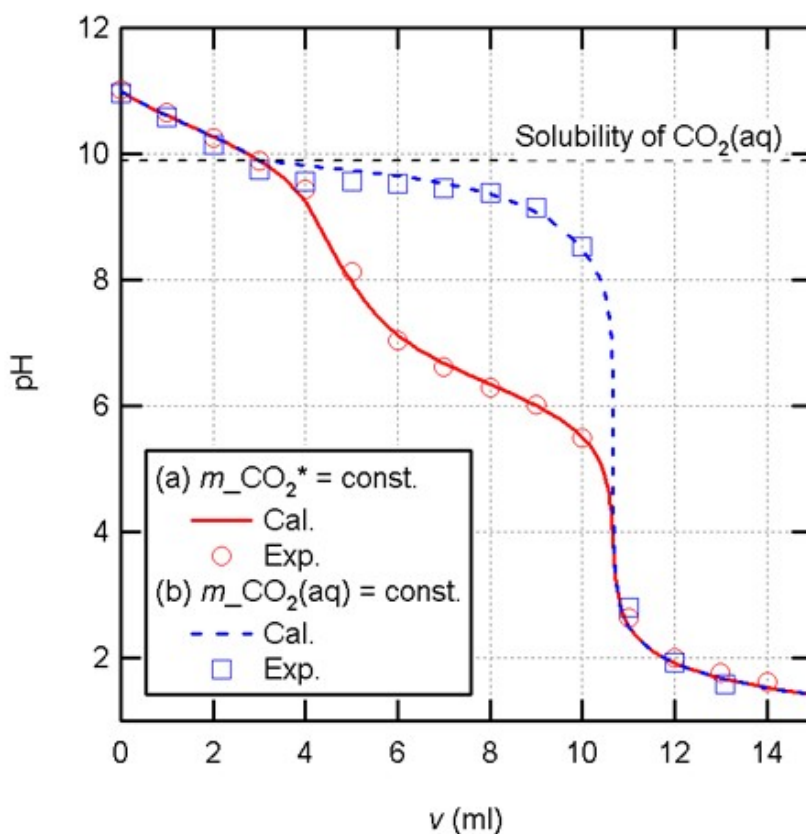
式 18 から  $[R - NH_3^+]$  が導出出来るので，式 6～9 に代入することで各成分を導く事が出来る．  
また，式 10，式 14，式 15 から滴定量を導く事が出来る．

これらの式を用いた計算から得られた滴定曲線と実験から得られた滴定曲線を Fig. 3-4 に示す. 実験, 計算共に 1 mg/ml PAH を含んだ 0.054 M 炭酸ナトリウム水溶液に対し, 1 M 塩酸を滴下した. 計算条件としては, (a)  $\text{CO}_2(\text{aq})$  が水溶液中に過飽和に溶け, 外部環境との間で二酸化炭素の移動が無い, すなわち全体の  $\text{CO}_2$  の総量  $m_{\text{CO}_2^*} = m_{\text{CO}_3^{2-}} + m_{\text{HCO}_3^-} + m_{\text{CO}_2(\text{aq})} + m_{\text{R-NHCOO}^-}$  が一定であると仮定したものと, (b) ヘンリーの法則に従った飽和量以上は溶解せず, 溶解量を超えたものは外部放出する, すなわち  $m_{\text{CO}_2(\text{aq})}$  が飽和溶解量を超えた場合,  $m_{\text{CO}_2(\text{aq})}$  は飽和量で一定になると仮定したものの 2 条件で行った. (b) の条件は二酸化炭素の溶解度として  $0.88 \text{ cm}^3/\text{cm}^3$  (1 気圧)[39]を使用し, 二酸化炭素の大気組成を 0.04 %とし 25 °Cにおける分圧(26.7 Pa)に換算し本計算条件における溶解度 ( $1.04 \times 10^{-4}$  M)とした. この条件で計算を行うと pH 値が 9.8 の時に  $\text{CO}_2(\text{aq})$  の飽和溶解量に達するため, pH 値が 9.8 以上の領域では(a), (b)の結果は一致するが, 9.8 以下の領域では異なる結果となる.

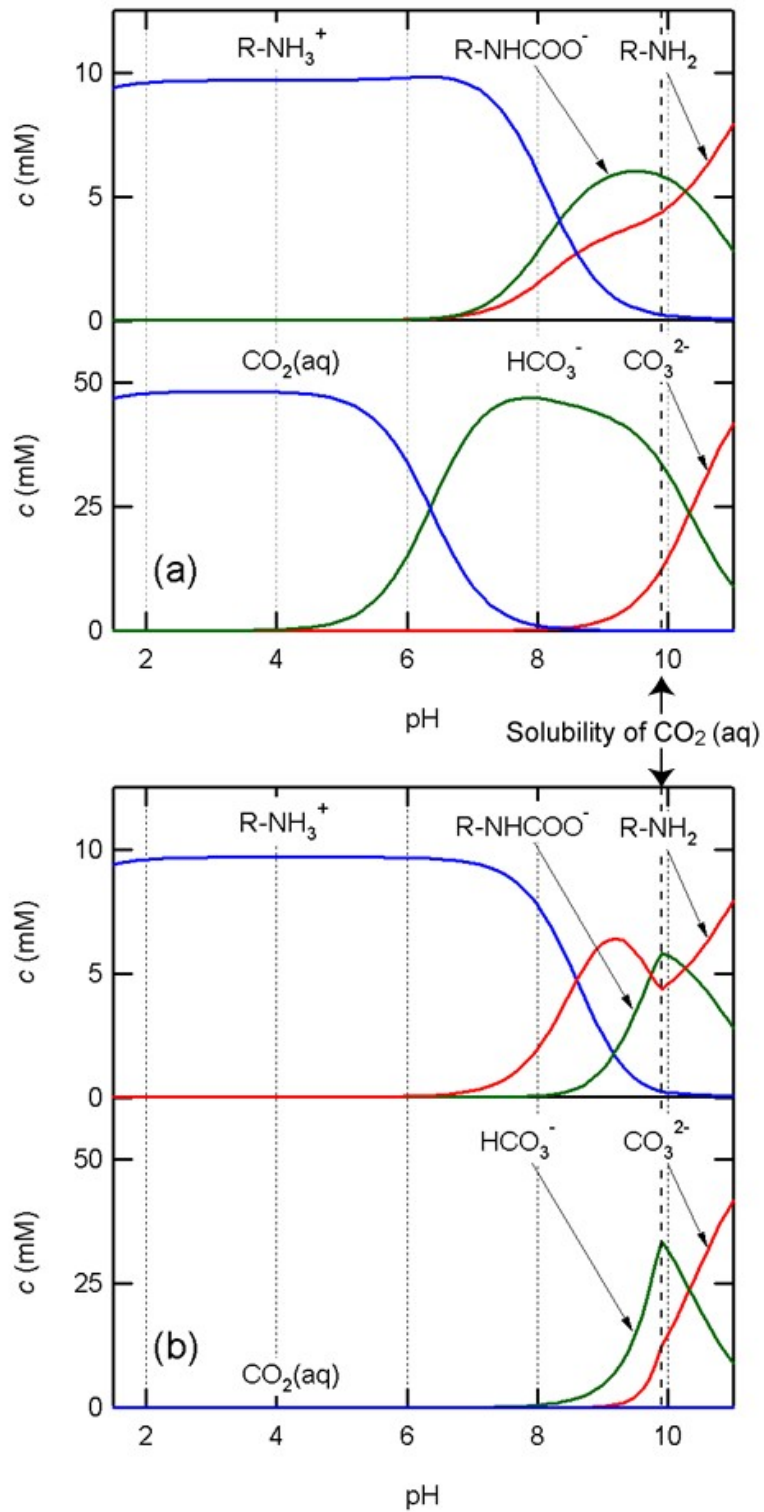
実験条件は (a)水溶液をマグネティックスターラーで常時 300 rpm で攪拌し, 水溶液中に塩酸を一分感覚で 1 ml 滴下する条件と, (b)水溶液をマグネティックスターラーで常時 1000 rpm で攪拌し, 水溶液の pH 値が安定するまで待ち, 安定したところで 1 ml の塩酸を滴下する (15 分間 1pH を測定し, 変化が無い場合安定とした. 早く安定した域では 15 分, 時間がかかった領域で 3 時間程度の間隔となった.)条件の 2 条件で行われた. この実験において, 塩酸を滴下した直後は急激に pH 値が下がり, その後, 徐々に pH 値が上昇しある値で一定に達するという傾向が見られた. これは, 塩酸滴下直後は塩酸が拡散することで pH 値が下がり, その後, 反応が進む事と, 反応によって飽和溶解量を超えて生成された  $\text{CO}_2(\text{aq})$  が大気中に抜けるために pH 値が上昇するのだと考えられる. 実験条件(a)においては塩酸滴下後, 急激に pH 値が下がった後の pH 上昇がほとんど無かったが, 条件(b)においては pH 値が 9.8 以下の領域で上昇する傾向が顕著にみられた. これは, pH 値が 9.8 以上の領域において  $\text{CO}_2(\text{aq})$  が飽和量に達していないため違いは見られないが,  $\text{CO}_2(\text{aq})$  が飽和量に達している  $\text{pH} < 9.8$  の領域において, 条件(a)においては水溶液をゆっくりと攪拌し, 攪拌する時間も短かったため  $\text{CO}_2(\text{aq})$  が水溶液中に過飽和に溶けており, 条件(b)では, 激しく長時間攪拌していた(b)では脱泡され  $\text{CO}_2(\text{aq})$  の溶解量が飽和溶解量程度に達したのだと考えられる. Fig. 3-4 に示す通り, 2 条件どちらにおいても実験結果と計算結果が非常に良く一致した. この滴定曲線の結果は PAH を含まない炭酸ナトリウム水溶液においてもほぼ同じ結果が得られ, PAH が滴定曲線に与える影響は塩酸滴下量 0 ml 時の pH 値など, 限定的なものとなる.

Fig. 3-5 には計算によって求められた pH 値における各成分の変化を示す. この計算においても, 滴定曲線の計算と同様,  $m_{\text{CO}_2^*} = m_{\text{CO}_3^{2-}} + m_{\text{HCO}_3^-} + m_{\text{CO}_2(\text{aq})} + m_{\text{R-NHCOO}^-}$  が一定であると仮定したものと, (b)  $m_{\text{CO}_2(\text{aq})}$  が飽和溶解量を超えた場合,  $m_{\text{CO}_2(\text{aq})}$  は飽和量で一定になると仮定したものの 2 条件で行った. 条件(a)では pH 値が 7.5~9.0 で  $\text{R-NHCOO}^-$  と  $\text{R-NH}_3^+$  が共存するという結果が見られた. この pH 帯は実験において溶液が白濁している範囲であり, これは PAH コロイドが  $\text{R-NHCOO}^-$  と  $\text{R-NH}_3^+$  の凝集によって出来た

ものである事を示していると考えられる。また、この領域では  $\text{CO}_2(\text{aq})$  が飽和量に達しているため、水溶液中に  $\text{CO}_2$  のマイクロバブルが発生し、このマイクロバブルをテンプレートとしてマイクロカプセルが生成されたのだと考えられる。条件(b)にける計算結果では  $\text{pH}=9.0$  の付近で  $\text{R-NHCOO}^-$  と  $\text{R-NH}_3^+$  が共存している。塩酸が滴下され、水溶液が  $\text{pH}=9.0$  付近になったとき、塩酸を滴下した付近の場所で一時的に水溶液が白濁する。これは、部分的に  $\text{pH}$  が低下し  $\text{R-NHCOO}^-$  と  $\text{R-NH}_3^+$  が共存したためで、攪拌を続けるとすぐに透明に戻る。滴下した塩酸の総量  $v$  が増えるに従って、白濁してから、透明の状態に戻るまでに要する時間が増える傾向が見られた。この実験では  $v=10 \text{ ml}$  の時に安定した状態において水溶液全体が白濁したが、さらに塩酸を加えると  $\text{pH}$  は急激に低下し、その結果水溶液も透明な状態に戻った。



**Fig. 3-4 Measured and calculated titration curves of 100 ml of 0.054 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  aqueous solution containing PAH titrated with 1 M HCl under two different conditions: (a) The overall  $\text{CO}_2$  mass  $m_{\text{CO}_2^*} = m_{\text{CO}_3^{2-}} + m_{\text{HCO}_3^-} + m_{\text{CO}_2(\text{aq})} + m_{\text{R-NHCOO}^-}$  is constant and (b) the  $\text{CO}_2$  mass in the aqueous phase,  $m_{\text{CO}_2(\text{aq})}$ , is constant.**



**Fig. 3-5** Calculated compositions vs. pH curves under two different titration conditions: (a) The overall  $CO_2$  mass  $m_{CO_2^*} = m_{CO_3^{2-}} + m_{HCO_3^-} + m_{CO_2(aq)} + m_{R-NHCOO^-}$  is constant and (b) the  $CO_2$  mass in the aqueous phase,  $m_{CO_2(aq)}$ , is constant.

### 3.4 成分の測定 (FTIR)

PAH と CO<sub>2</sub> の反応が起こっている事を実験的に調べるため、FTIR を用いて成分の測定が行われた。FTIR は赤外分光光度計の一種である。赤外分光光度計は、分子に赤外線を照射したとき、分子の構造によっては励起が生じ、赤外線のエネルギーが吸収され振動、回転などの運動エネルギーに変換されることを利用した測定方法である。このエネルギーの吸収は分子の化学構造によって異なってくるため、赤外線の吸収量を測定することで分子を特定することが出来る。赤外分光光度計には FTIR の他に分散型 IR と呼ばれるものがある。分散型 IR は赤外線を試料に直接照射し、試料を通過した光を分光することで測定するのに対し、FTIR では赤外線を干渉計に通し、干渉光を試料に照射し、検出した光をフーリエ変換することでスペクトル波形を得る。この方法を用いる事によって、FTIR は測定時間が短く、分解能が高いことが特徴として挙げられる。

また、今回の測定で用いた一回反射型ダイヤモンド ATR は Fig. 3-6 に示すようダイヤモンドに試料を乗せ、そこに赤外線を照射し、全反射する反射光を測定する。ダイヤモンド表面に光が照射されたとき、僅かに試料側に光が染み出す（エバネッセント波）ため試料に光が吸収される。この吸収量を測定する。この方法では試料に染み出る数  $\mu\text{m}$  だけ試料を通過することになるため、赤外線の吸収量が少なくなるという特徴がある。この測定は水溶液など吸収量の高い物質を測定する際に多く用いられており、水溶液などの吸収量の高い物質を透過法によって測定するためにはセルを非常に薄くするなどの工夫をしなければ赤外線が完全に遮られてしまうが、ATR を用いることで容易に測定することが可能となる。このような特徴から本測定においても ATR-FTIR を用いて測定を行った。

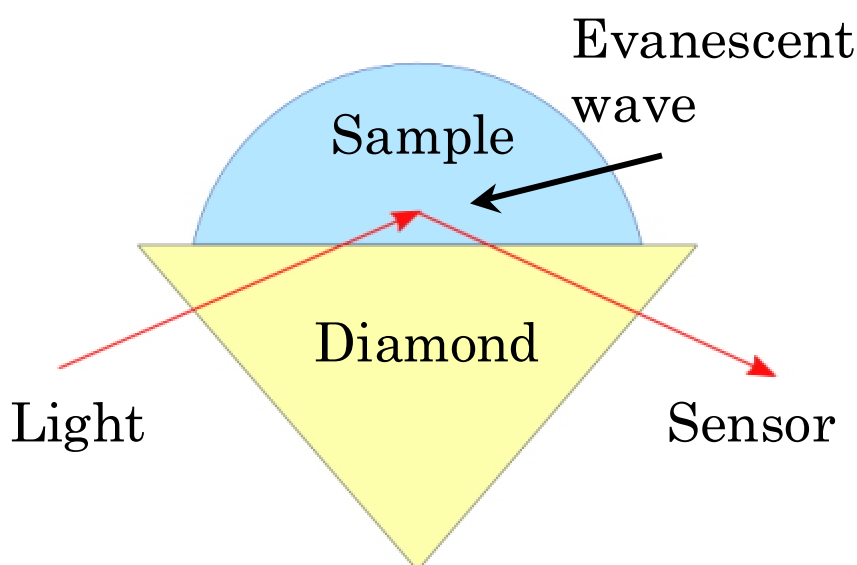


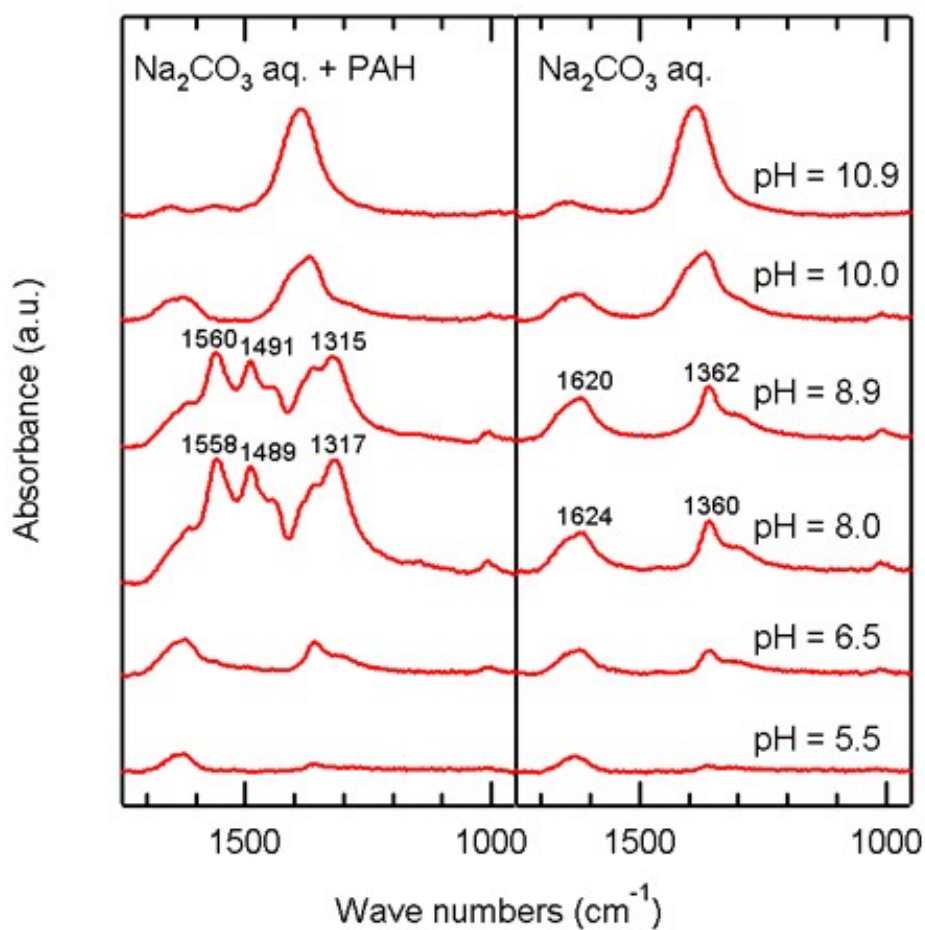
Fig. 3-6 Schematic image of ATR-FTIR

試料は炭酸ナトリウム水溶液の PAH を含むものと、含まないものの二種類が用いられた。用意された水溶液はこれまでの滴定実験で用いたものと同様の 1.0 mg/ml PAH 0.054 M 炭酸ナトリウム水溶液で pH 値は 10.9 であった。PAH を含む炭酸ナトリウム水溶液に合わせるため、PAH を含まない炭酸ナトリウム水溶液の pH は 1 M HCl を用いて 10.9 に調整された。これらの水溶液は 1 M 塩酸を滴下され、各水溶液において 6 回ずつ pH を変えて測定が行われた(pH=10.9, 10.0, 8.9, 8.0, 6.5, 5.5)。Fig. 3-7 に塩酸で滴定した PAH を含む炭酸ナトリウム水溶液および PAH を含まない炭酸ナトリウム水溶液の純水で規格化された FTIR スペクトルを示す。

各測定において  $950\text{--}1750\text{ cm}^{-1}$  の範囲を  $2\text{ cm}^{-1}$  間隔に 64 回スキャンが行われた。Fig. 3-7 から二種類の水溶液での FTIR-ATR スペクトルは pH=8.9 および 8.0 を除いた四点においてほぼ同様の結果が得られた。pH=8.9 および 8.0 において PAH を含んでいる水溶液はどちらも白濁がしていたが、PAH を含んでいない水溶液はどちらの水溶液においても透明であった。その他の pH 帯においては、どちらの水溶液でも全て透明であった。PAH を含む水溶液の pH=8.9 および 8.0 において  $1200\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$  の範囲で典型的なカルバメートの FTIR-ATR スペクトルバンドが示された。 $1500\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$  付近に現れるバンドは amide II バンドと呼ばれており、主にカルバメート内の N-H 結合部分の distortion 振動、C-N 結合部分の stretching 振動に起因する[40]。また、 $1300\text{ cm}^{-1}$  付近に現れるバンドは amide III バンドと呼ばれており、C $\alpha$ H 結合および N-H 結合の bending 振動に起因する。これらのバンドが pH=8.9 および 8.0 に現れたことから、これらもカルバメートに起因すると考えられる。Jackson ら[41] は monoethanolamine 水溶液に対して似たような FTIR-ATR スペクトル測定を行っており、このピークがカルバメート生成のために現れたと報告している。PAH を含まない pH=8.9 および 8.0 の水溶液における FTIR-ATR 水溶液では  $1362\text{ cm}^{-1}$  及び  $1620\text{ cm}^{-1}$  において炭酸塩基の stretching 振動によるバンドが示されている[42]-[44]。

Fig. 3-5 に示した pH 値における各成分の変化においては pH=10.9 および 10.0 においても PAH を含む水溶液からカルバメートイオンすなわち  $\text{R-NHCOO}^-$  が水溶液中に含まれていることが示されているが、この測定においてはカルバメートを示す amide II, amide III の 2 つのバンドが pH=8.9 や 8.0 に現れたが pH=10.9 および 10.0 では現れなかった。 $\text{R-NHCOO}^-$  は  $\text{R-NH}_2$  と  $\text{CO}_2(\text{aq})$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  の反応によるもので、これらの反応速度はそれぞれの濃度と反応速度によって決定される。pH=10.9 および 10.0 ではこれらの濃度の違いによって反応速度が変わったために  $\text{R-NHCOO}^-$  が観測されなかったのだと考えられる。反応速度については 3.5 で詳しく述べる。





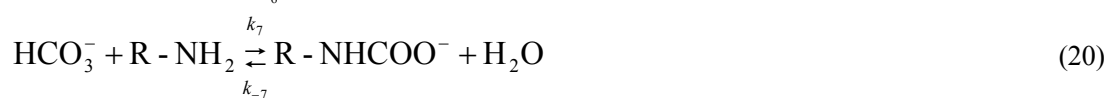
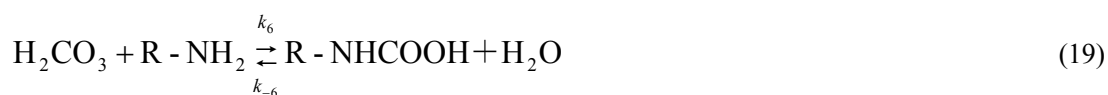
**Fig. 3-7 FTIR-ATR spectra of 0.054 M  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  aqueous solutions with (left) and without PAH (right) titrated with 1 M HCl. The initial concentration of PAH was set to be 1.0 mg/ml.**

### 3.5 反応速度

PAH と炭酸の反応はその組成によって反応速度が違う．3.4 において，計算上は pH=10.9 および 10.0 においても R-NHCOO<sup>-</sup>が観測されるはずであったが，実際には観測されなかった．このことから，実験時の組成は 3.3 で示した平衡状態での組成とは異なってくる事が考えられる．反応速度について検討することは，マイクロカプセル生成のメカニズムを考える上でも重要であると考えられるため，本節においては反応速度についての検討を行った．

これまでの結果から，R-NHCOO<sup>-</sup>の反応速度が組成の状態によって十分に速く無いために，FTIR と計算の結果に違いが出たのではないかと考えられる．そこで，R-NHCOO<sup>-</sup>の反応速度を以下の計算により求めた．

R-NHCOO<sup>-</sup>は以下の反応によって生成される．



それぞれの反応速度定数は以下に示す通りである．

$$k_6 = 7.16 \times 10^2 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$k_{-6} = 5.14 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$$

$$k_7 = 1.05 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$k_{-7} = 7.43 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$$

$$k_8 = 6.11 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$k_{-8} = 29.8 \text{ s}^{-1}$$

ここで，R-NHCOOH は以下に示す解離反応を通して，ほぼ全てが R-NHCOO<sup>-</sup>の状態で存在する．



この反応の酸解離定数を常用対数で表すと pK<sub>a9</sub> = 7.49 であると報告されている．

式 19～21 からそれぞれの反応速度，逆反応速度は次のように表される．

$$v_6 = k_6[H_2CO_3][R-NH_2] \quad (23)$$

$$v_{-6} = k_{-6}[R-NHCOOH] \quad (24)$$

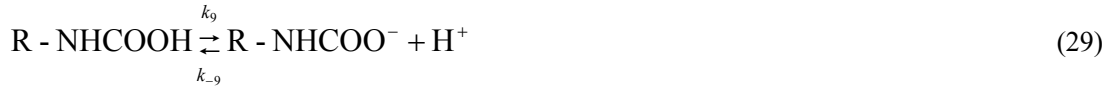
$$v_7 = k_7[HCO_3^-][R-NH_2] \quad (25)$$

$$v_{-7} = k_{-7}[R-NHCOO^-] \quad (26)$$

$$v_8 = k_8[CO_2(aq)][R-NH_2] \quad (27)$$

$$v_{-8} = k_{-8}[R-NHCOOH] \quad (28)$$

また，式 22 の反応速度定数を以下のように設定する．



反応速度定数は解離反応なので十分に大きな値であることが予想される．そのため，計算を行う上では律速しないように値を設定した．

反応速度は以下に示す通りである．

$$v_9 = k_9[R-NHCOO^-][H^+] \quad (30)$$

$$v_{-9} = k_{-9}[R-NHCOOH] \quad (31)$$

$R-NHCOO^-$ への反応，逆反応が起こる速度をそれぞれ  $v$ ， $v_{-}$ とすると，(20)，(21)，(25)，(26) より

$$v = v_7 + v_9 = k_7[HCO_3^-][R-NH_2] + k_9[R-NHCOOH] \quad (32)$$

$$v_{-} = v_{-7} + v_{-9} = k_{-7}[R-NHCOO^-] + k_{-9}[R-NHCOOH] \quad (33)$$

となる．反応速度を用いて，反応が始まってから  $t$  秒後の  $R-NHCOO^-$  モル濃度は以下のよう示すことが出来る．

$$[R-NHCOO^-]_t = [R-NHCOO^-]_0 + \int_0^t (v - v_{-}) dt \quad (34)$$

ここで $[R-NHCOO^-]_0$ は反応前に存在していたモル濃度を示す.

数値計算するために式 34 を以下のように書き直すことが出来る.

$$[R-NHCOO^-]_t = [R-NHCOO^-]_{t-\Delta t} + (v - v_-)\Delta t \quad (35)$$

$R-NHCOO^-$ が生成されるとき, 同時に  $R-NH_2$  や  $HCO_3^-$ が消費され変化するため, さらにそれに関連する全ての濃度が変化する事になる.  $R-NHCOOH$  の反応速度は以下に示す通りである.

$$[R-NHCOOH]_t = [R-NHCOOH]_{t-\Delta t} + (v_6 - v_{-6})\Delta t + (v_8 - v_{-8})\Delta t - (v_9 - v_{-9})\Delta t \quad (36)$$

また, 炭酸は以下のような反応から生じる.



反応速度定数は以下に示す通りである.

$$k_{10} = 4.68 \times 10^{-2} s^{-1}$$

$$k_{-10} = 40.65 s^{-1}$$

$$k_{11} = 1.24 \times 10^4 M^{-1} s^{-1}$$

$$k_{-11} = 3.86 \times 10^{-4} s^{-1}$$

以下のように解離反応に対して反応速度定数を設定した.



この反応速度は解離反応であるので反応速度は十分に速いと考えられる.

式 37~40 からそれぞれの反応速度は以下ようになる.

$$v_{10} = k_{10}[CO_2(aq)] \quad (41)$$

$$v_{-10} = k_{-10}[H_2CO_3] \quad (42)$$

$$v_{11} = k_{11}[CO_2(aq)][OH^-] \quad (43)$$

$$v_{-11} = k_{-11}[HCO_3^-] \quad (44)$$

$$v_2 = k_2[R-NH_3^+] \quad (45)$$

$$v_{-2} = k_{-2}[R-NH_2][H^+] \quad (46)$$

$$v_{-4} = k_{-4}[HCO_3^-] \quad (47)$$

$$v_{-4} = k_{-4}[CO_3^{2-}][H^+] \quad (48)$$

以上から、各成分の反応開始から t 秒後の濃度は、以下ようになる.

$$[R-NH_2]_t = [R-NH_2]_{t-\Delta t} + (v_2 - v_{-2})\Delta t - (v_6 - v_{-6})\Delta t - (v_7 - v_{-7})\Delta t - (v_8 - v_{-8})\Delta t \quad (49)$$

$$[CO_3^{2-}]_t = [CO_3^{2-}]_{t-\Delta t} + (v_4 - v_{-4})\Delta t \quad (50)$$

$$[HCO_3^-]_t = [HCO_3^-]_{t-\Delta t} - (v_4 - v_{-4})\Delta t - (v_7 - v_{-7})\Delta t + (v_{11} - v_{-11})\Delta t \quad (51)$$

$$[CO_2(aq)]_t = [CO_2(aq)]_{t-\Delta t} - (v_8 - v_{-8})\Delta t - (v_{10} - v_{-10})\Delta t - (v_{11} - v_{-11})\Delta t \quad (52)$$

$$[H_2CO_3]_t = [H_2CO_3]_{t-\Delta t} - (v_6 - v_{-6})\Delta t + (v_{10} - v_{-10})\Delta t \quad (53)$$

計算条件として t 秒後における反応速度は  $\Delta t$  秒前の濃度を用い、 $\Delta t$  が十分小さくなるように設定した. 初期条件となる濃度は、式 1 の反応が他の反応に比べ十分遅いと仮定して、 $R-NHCOO^-$  の濃度が 0 でそれ以外の状態は平衡に達していると仮定し、式 7~9 および以下の式を用い計算を行った.

炭酸の平衡状態は以下の反応に従う.



この反応の酸解離定数は  $K_{12} = 2.5 \times 10^{-4}$  と報告されている.

解離度は以下の式で表される.

$$K_{12} = \frac{[HCO_3^-][H^+]}{[H_2CO_3]} \quad (55)$$

PAH,  $CO_2$  の総量より以下の式が導かれる.

$$[PAH] = [R - NH_2] + [R - NH_3^+] \quad (56)$$

$$[CO_2] = [CO_{2(aq)}] + [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}] + [H_2CO_3] \quad (57)$$

水溶液中は電氣的に中性であるため, 陽イオンと陰イオンの総和は等しくなるため, 以下のように表せる.

$$[H^+] + [Na^+] + [R - NH_3^+] = [HCO_3^-] + 2[CO_3^{2-}] + [OH^-] + [Cl^-]_{(PAH)} + [Cl^-]_{(HCl)} \quad (58)$$

以上の式から以下の式を導出できる.

$$V = \frac{\left( \frac{\left( 1 + 2 \frac{K_2}{[H^+]} \right) Na_2CO_3}{\left( 1 + \frac{[H^+]}{K_1} + \frac{K_2}{[H^+]} + \frac{[H^+]}{K_3} \right)} + \left( 1 - \frac{[H^+]}{[H^+] + K_4} \right) PAH - \alpha V_0 - 2Na_2CO_3 \right)}{[H^+] - [OH^-] - \alpha} \quad (59)$$

式 59 から任意の pH 値に対する各成分の平衡状態における濃度を求める事が出来る. これを用いて得られた濃度を初期の濃度とし, 繰返し計算によって求めた.

また、濃度が変化することで pH 値も変化するため、以下の式より、 $[H^+]$  の変化量を求めた。

$$\begin{aligned}\Delta[H^+]_t = & ([R-NHCOO]_t - [R-NHCOO]_0) \\ & - ([R-NH_3]_t - [R-NH_3]_0) \\ & + ([HCO_3^-]_t - [HCO_3^-]_0) \\ & + 2([CO_3^{2-}]_t - [CO_3^{2-}]_0)\end{aligned}\quad (60)$$

ここで増えた  $H^+$  の一部は  $OH^-$  と反応し  $H_2O$  を生成する。そのため、水のイオン積 ( $k_w=10^{-14}$ ) を用いて以下のように  $[H^+]$  を以下のように求める事が出来る。

$$[H^+]_t = \frac{[H^+]_{t-\Delta t} + \Delta[H^+] - [OH^-]_{t-\Delta t} + \sqrt{([H^+]_{t-\Delta t} + \Delta[H^+] - [OH^-]_{t-\Delta t})^2 + 4k_w}}{2} \quad (61)$$

以上より、1.0 mg/ml PAH を含んだ 0.054 M 炭酸ナトリウム水溶液に対し、1 M 塩酸を 1 ml/min. の速度で滴下していくという条件で計算を行った。この計算結果から得られた pH、および PAH の成分の時間変化を Fig. 3-8 に示す。この計算において、実験条件に合わせるため、塩酸の滴下は 1 分間かけて 1 ml を滴下するものではなく、1 分間隔で 1 ml の滴下を行っている。この結果においても、実験結果と同様、pH が一度下がった後、ゆっくりと上昇する傾向が見られており、実際の状態をよく再現できているのではないかと考えられる。

また、Fig. 3-9 には滴定曲線を示している。実験および平衡状態の計算結果と良く一致した。Fig. 3-10 にこの結果から求めた pH 値における各成分の変化を示す。この結果では Fig. 3-5 に示す結果と異なり、R-NHCOO<sup>-</sup> のピークが pH=9.0 辺りにずれ、pH=10 での値は小さくなった。pH=8.0 での値は小さくなっているが、これは pH=8.7 と 7.4 を直線で結んでいるためであり、pH=8.0 ではこれよりも大きな値になると考えられる。

R-NHCOO<sup>-</sup> の反応時間に対する濃度を Fig. 3-11 に示す。これまでの滴定実験同様、1 mg/ml PAH を含んだ 0.054 M 炭酸ナトリウム水溶液に対し、1 M 塩酸を滴下していくという条件で計算を行った。ただし、全ての条件において、反応時間 0 秒では R-NHCOO<sup>-</sup> 以外の成分は平衡に達しており、R-NHCOO<sup>-</sup> は全く存在しない状態とした。この状態での pH をそれぞれ pH=10.0, 9.0, 8.0 と設定した、ただし、反応が進むにつれて pH も変化している。

Fig. 3-11 から pH=10 と pH=9 とではほぼ変わらない速度で反応していることが分かる。また、pH=10 において pH=8 の平衡時の値に到達するまで 100 秒程度である事が分かった。

以上の結果より、R-NHCOO<sup>-</sup> の反応速度にはあまり違いは見られなかった。このことから、

pH=9 の場合, pH=10 の状態まで成分が変化するため, 結果的に R-NHCOO<sup>-</sup>の量が多くなる事が分かった.

R-NHCOO<sup>-</sup>の生成が, 式 19~21 のどの反応が主に寄与しているのかを調べるため, pH=10 における反応速度定数を Table 3-1 のように変えて 3 条件で計算を行った. Fig. 3-12 に結果を示す. Fig. 3-12 から, pH=10 において式 21 の反応によって R-NHCOO<sup>-</sup>が生成されていることが分かる. これは CO<sub>2</sub>(aq)が主に反応を行っている事を示している. 一方, Fig. 3-5 からこの pH 帯では CO<sub>2</sub>(aq)の濃度は非常に低いことが分かる. この事から, 濃度に関係なく反応は CO<sub>2</sub>(aq)から起こっていると考えられる. このため, 第 2 章の実験において界面からの反応が顕著だったと考えられる.



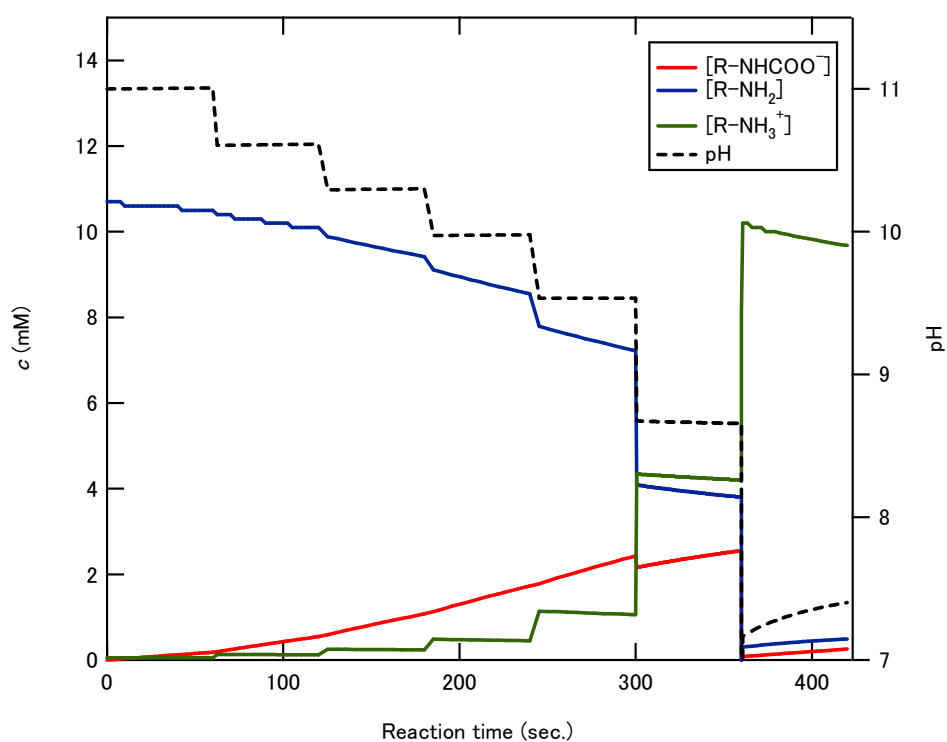


Fig. 3-8 Components and pH vs. reaction time curves.

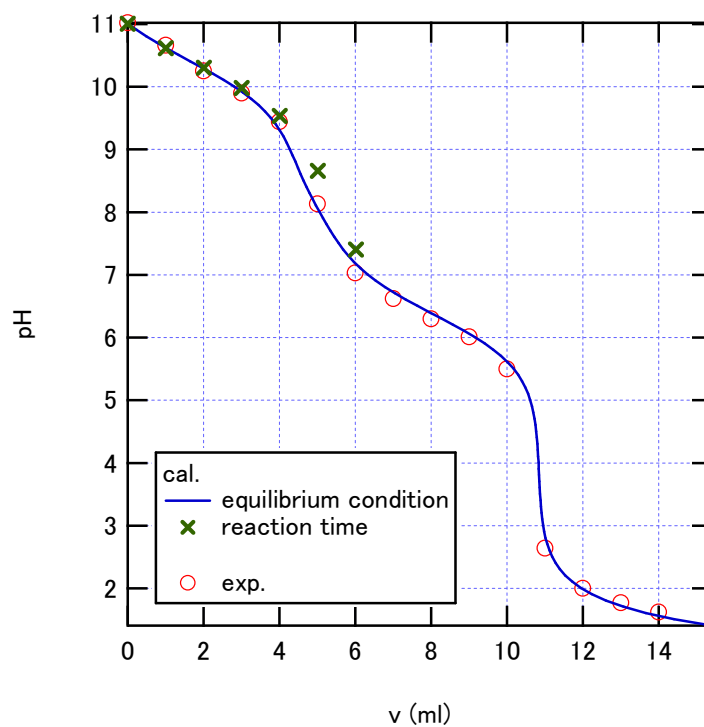
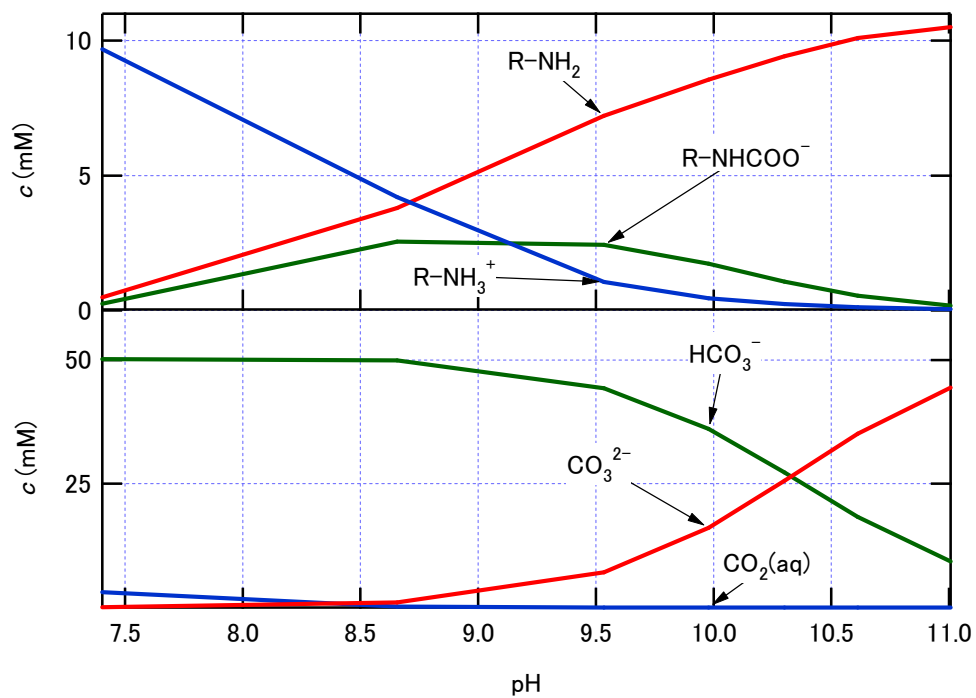
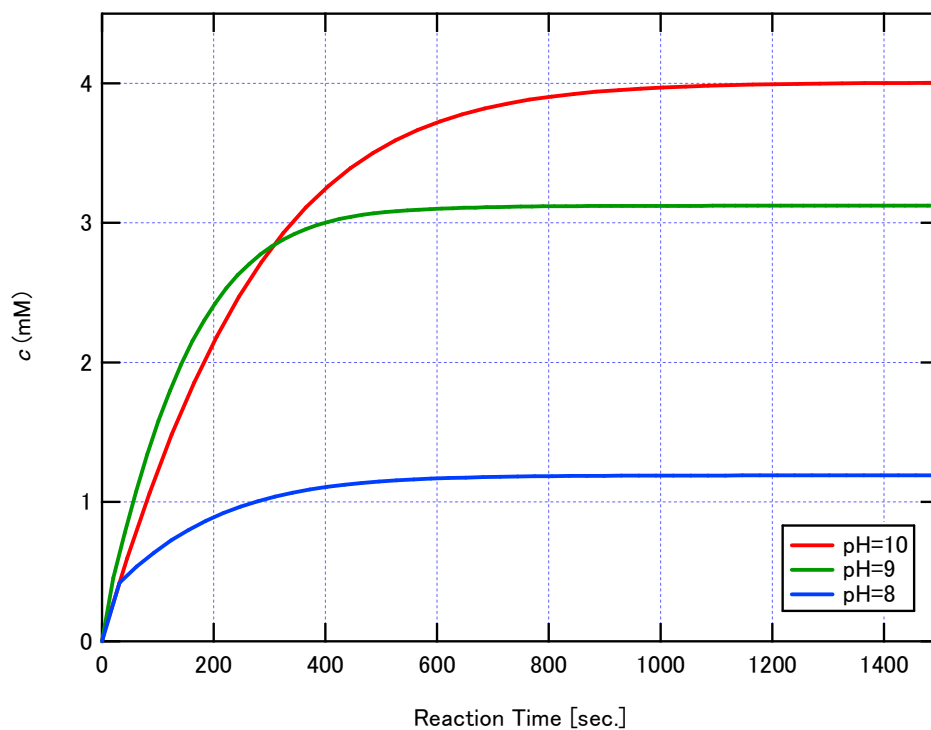


Fig. 3-9 Measured and calculated at two conditions (equilibrium condition and reaction time) titration curves of 100 ml of 0.054 M  $Na_2CO_3$  aqueous solution containing PAH titrated with 1 M HCl.



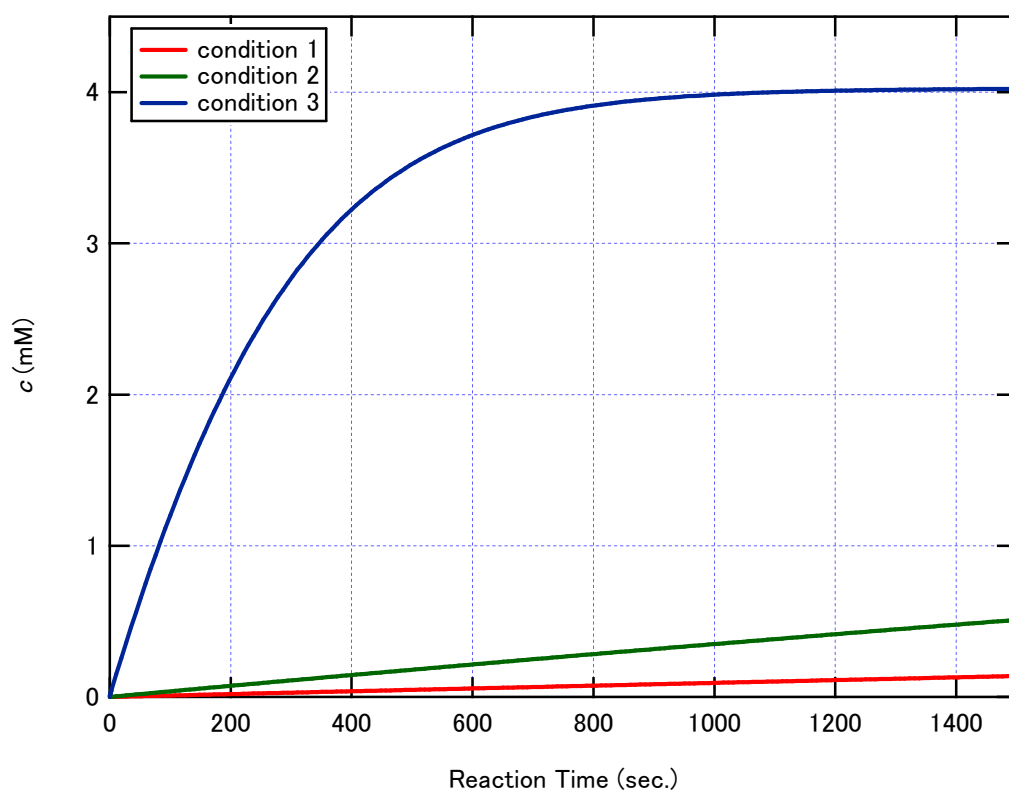
**Fig. 3-10 Compositions vs. pH curves calculated by reaction time.**



**Fig. 3-11  $\text{R-NHCOO}^-$  concentration vs. reaction time curves at three different pHs: pH=10, 9 and 8.**

**Table 3-1 Calculation conditions**

	Condition 1	Condition 2	Condition 3
$k_6$	$7.16 \times 10^2 M^{-1} s^{-1}$	0	0
$k_{-6}$	$5.14 \times 10^{-3} s^{-1}$	0	0
$k_7$	0	$1.05 \times 10^{-3} M^{-1} s^{-1}$	0
$k_{-7}$	0	$7.43 \times 10^{-5} s^{-1}$	0
$k_8$	0	0	$6.11 \times 10^3 M^{-1} s^{-1}$
$k_{-8}$	0	0	$29.8 s^{-1}$



**Fig. 3-12 R-NHCOO<sup>-</sup> concentration vs. reaction time curves at pH=10 under three different conditions.**

## 第4章 バイレイヤーマイクロカプセルの製作

### 4.1 概要

これまでに示した PAH マイクロカプセルは、pH 値が 9.0～7.5 の間では安定であったが、これ以上 pH を下げることで消えてしまうことが確認されている。これは  $\text{R-NH}_3^+$  と  $\text{R-NHCOO}^-$  の濃度割合が変わるためにコロイドが分解してしまうために、水中に解けてしまうのだと考えられる。一方で、医薬品としての応用を考える場合、血液の pH 値は正常時でおよそ 7.4 であり、異常がある場合、7.0 程度まで低下することもあるため、マイクロカプセルはある程度低い pH 帯でも安定して存在する必要がある。低 pH 域においても安定なマイクロカプセルを作るために、PAH マイクロカプセルの上に PSS の層を作る事でバイレイヤーマイクロカプセルの製造を行った。

## 4.2 実験試薬と装置

### 4.2.1 実験試薬

電解質高分子膜材料にはこれまでの章でも使用した PAH, 蛍光顕微鏡観察用に FITC-PAH が用いられた. 二層目に吸着させるアニオン性の電解質高分子として Poly(sodium 4-styrenesulfonate)(PSS) (Mw: ca. 70,000)(Sigma-Aldrich, US)が用いられた. PSS の構造を Fig. 4-1 に示す. PSS は炭素の錯体にベンゼンスルホン基が付いている構造になっており, スルホン基の水素イオンが脱離することで, ポリマーがマイナスの電荷を帯びる. この解離定数  $K_a$  は 1.0 であり, 酸性の環境では解離を起こさずニュートラルな状態となる.

pH 調整には 1 M 塩酸, 炭酸ナトリウム(Wako, Japan)が用いられた. pH 標準液にはしゅう酸塩標準液(pH 1.68), フタル酸塩標準液(pH 4.01), 中性リン酸塩標準液(pH 6.86), ほう酸塩標準液(pH 9.18), 水酸化カルシウム標準液(pH 12.45)を用いた. 水には Milli-Q Advantage A10 water purification system から得た 18.2 M $\Omega$  程度の抵抗を持つ超純水を使用した.

### 4.2.2 実験装置

攪拌にはホットスターラー REXIM RSH-1D (AS ONE, Japan) が用いられた. 試薬の分量を量る電子天秤には LIBROR AEG-320 (SHIMADZU, Japan)が用いられた. pH の測定には accumet Excel XL15 pH/mV/Temperature Meter(Fisher Scientific, US)が用いられた. 明視野・蛍光顕微鏡観察には倒立顕微鏡(Eclipse Ti-E, Nikon Corporation, Japan)が用いられた.

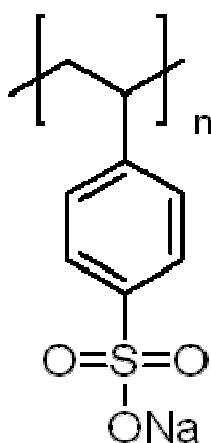


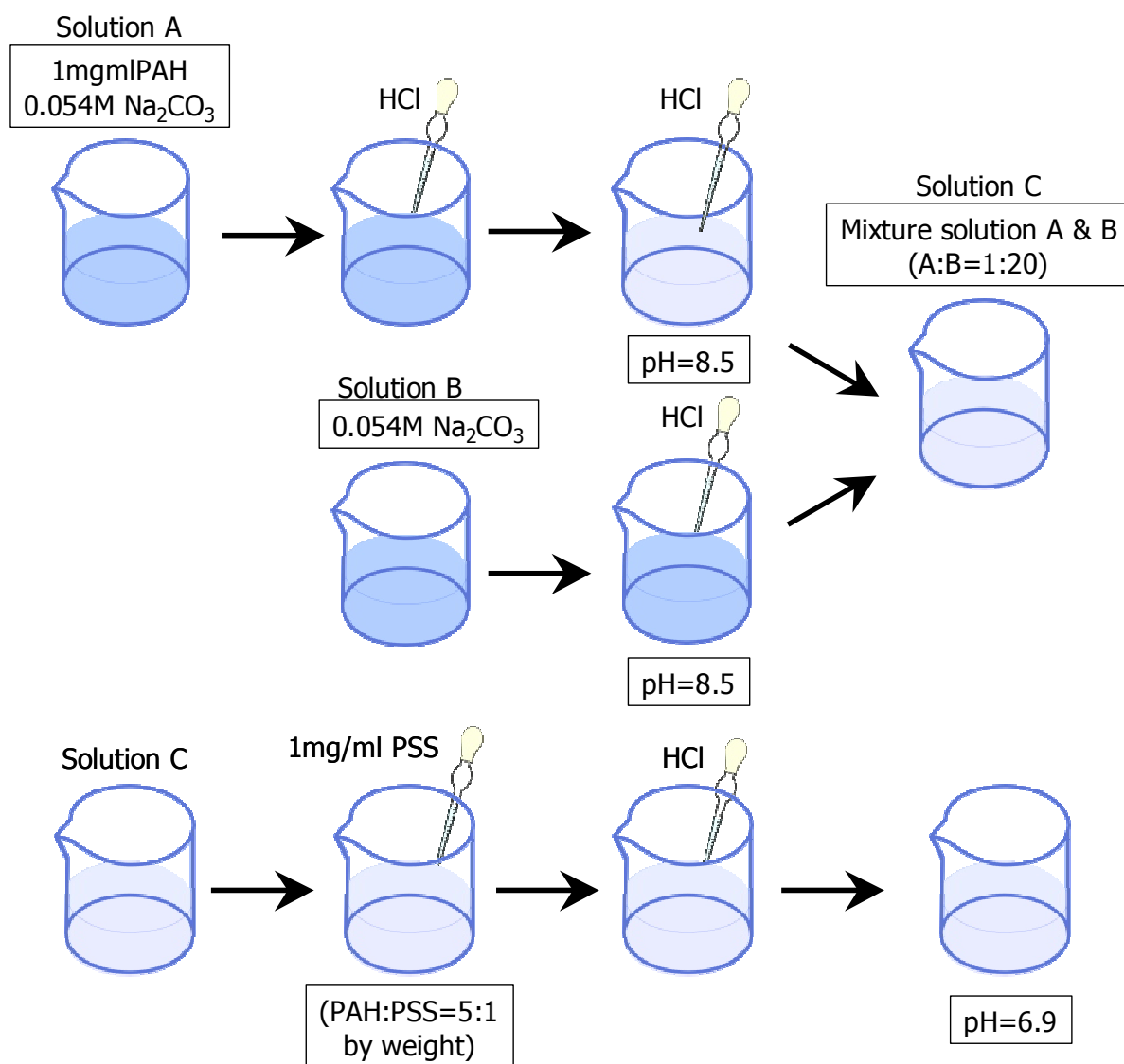
Fig. 4-1 Structure of Poly (sodium 4-styrenesulfonate).

### 4.3 実験方法

本手法で作製した PAH 中空マイクロカプセルは pH 値が 7.5 以下になると水溶液に溶けて消えてしまうことが確認されている。これは  $\text{R-NH}_3^+$  と  $\text{R-NHCOO}^-$  の濃度割合が変わるためにコロイドが分解してしまうためだと考えられる。Fig. 3-5 に示した pH に対する組成の変化から、pH が低下すると  $\text{R-NHCOO}^-$  が減り、逆に  $\text{R-NH}_3^+$  が増えることが分かる。このことからマイクロカプセルの状態を保っている状態でも、コロイドの正味の電荷がマイナスからプラスへ変わっている事を示している。これは、マイクロカプセルの表面電荷もマイナスからプラスへと変わっている事を示している。このことから、PAH マイクロカプセルの上に PSS の層を作る事が可能であると考えられるため、バイレイヤーマイクロカプセルの製造を行った。

もしカプセルの表面電荷がプラスのときに PSS が加えられた場合、PSS は中空マイクロカプセルの表面に吸着されると考えられる。そこで滴定による手法を用いてマイクロカプセルを製造し、白濁後に PSS を加えることでバイレイヤーマイクロカプセルを製造した。

Fig. 4-21 にバイレイヤーマイクロカプセルの作成手順を示す。まず、これまで行ってきた滴定による方法と同様に 1 mg/ml PAH を含んだ 0.054 M 炭酸ナトリウム水溶液 (A 液) を用意した。この A 液に対して、1 M 塩酸を用いて滴定を行い、白濁した水溶液 (pH=8.5) を作製した。一方、PAH を含まない 0.054 M 炭酸ナトリウム水溶液 (B 液) を用意し、1 M 塩酸を用いて pH=8.5 に調整した。A 液と B 液を混合比 1:20 の割合で混合した。(C 液) これは、薄めない状態の PAH 水溶液ではカプセルの密度が高すぎるため、PSS によってカプセル同士が結合してしまい、綺麗なカプセルが生成されないためである。次に、C 液に対して、質量比で PAH:PSS=5:1 になるように 1 mg/ml PSS を加え、攪拌し、1 M 塩酸で滴定し pH=6.9 まで pH を下げ、観察を行った。



**Fig. 4-2 Fabrication procedure of bilayer microcapsule.**

#### 4.4 結果と考察

Fig. 4-3 に pH=6.9 における中空 PAH/PSS マイクロカプセルの明視野および蛍光の倒立顕微鏡画像を示す.

この画像から pH=6.9 においても微小球体が安定に存在している事が分かる. 中空 PAH マイクロカプセルが PSS によって覆われ, 中空 PAH/PSS マイクロカプセルが pH=6.9 でも安定であったと考えられる. 以上のことから, 低 pH 域でも安定な中空電解質高分子マイクロカプセルを作製できた. さらに, 実験結果から, 本実験で作製した PAH マイクロカプセルは LbL マイクロカプセルの芯物質として利用可能であり, 本実験で用いた方法を使うことで, 従来方法では難しかった薄膜の中空電解質高分子マイクロカプセルを製造する事が可能である.

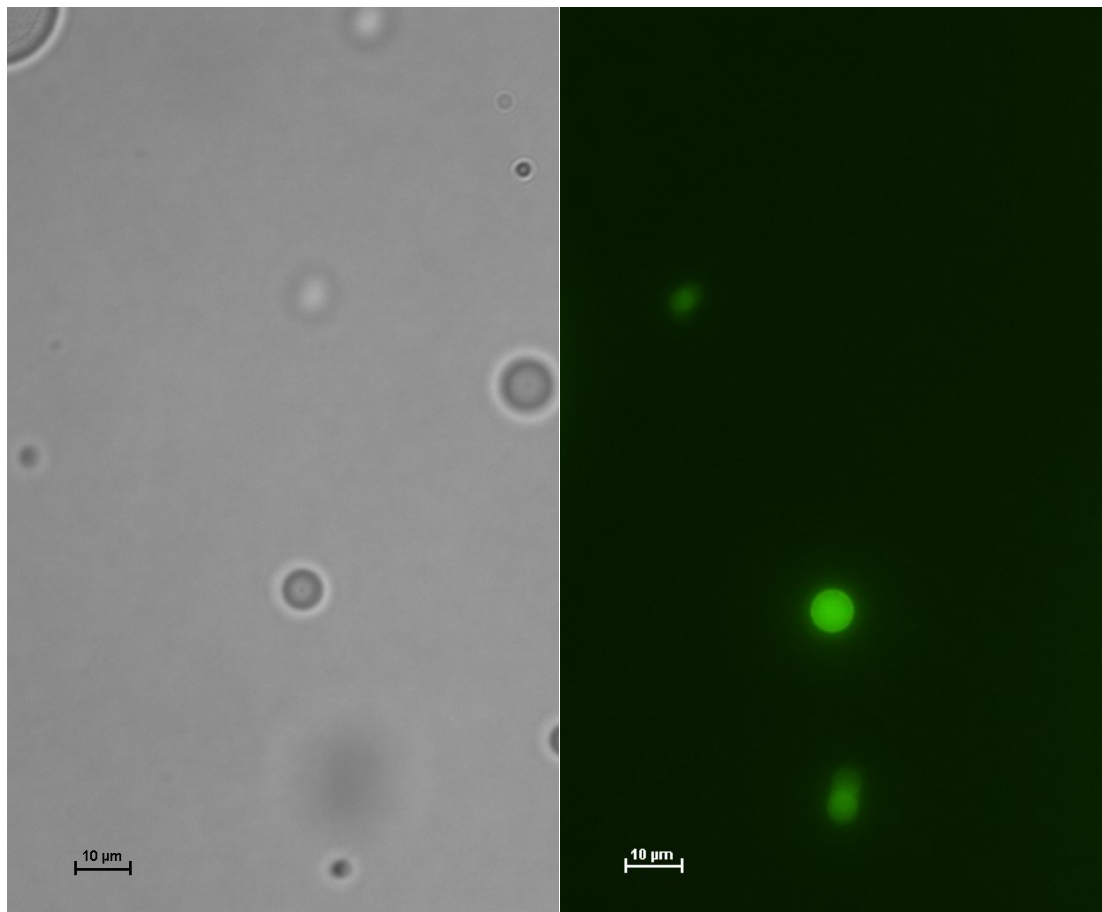


Fig. 4-3 Bright-field (left) and epifluorescence (right) images of hollow PAH/PSS microcapsules.

The pH of the solution is 6.9.



## 第5章      カプセル径の調整

### 5.1    概要

超音波造影剤としての応用を考えた場合，平均径が  $5\text{ }\mu\text{m}$  程度と血管に入れることが可能なサイズに収まっているが，ハーモニック信号の強度を高めるためにはカプセルの均一性を向上させる必要がある．サイズを均一にコントロールするためには，サイズがどのようなパラメータによって決まっているのかを理解する必要がある．そこで，本章ではパラメータを変えて中空マイクロカプセルを作製し何がカプセルの径に影響を与えているのかを検討した．

## 5.2 実験試薬と装置

### 5.2.1 実験試薬

電解質高分子膜材料にはこれまでの章でも使用した PAH が用いられた。pH 調整には 1 M 塩酸, 炭酸ナトリウム(Wako, Japan)が用いられた。pH 標準液にはしゅう酸塩標準液(pH 1.68), フタル酸塩標準液(pH 4.01), 中性リン酸塩標準液(pH 6.86), ほう酸塩標準液(pH 9.18), 水酸化カルシウム標準液(pH 12.45)を用いた。水には Milli-Q Advantage A10 water purification system から得た 18.2 M $\Omega$  程度の抵抗を持つ超純水を使用した。

### 5.2.2 実験装置

攪拌にはホットスターラー REXIM RSH-1D (AS ONE, Japan) が用いられた。試薬の分量を量る電子天秤には LIBROR AEG-320 (SHIMADZU, Japan)が用いられた。pH の測定には accumet Excel XL15 pH/mV/Temperature Meter(Fisher Scientific, US)が用いられた。明視野・蛍光顕微鏡観察には倒立顕微鏡(Eclipse Ti-E, Nikon Corporation, Japan)が用いられた。

### 5.3 実験方法

マイクロカプセルのサイズは芯となるマイクロバブルの大きさによって決定されと考えられる。PAH の入っていない水溶液中で二酸化炭素が飽和に達すると、微小なバブルが発生し、時間の経過と共に成長し大きくなって外気へ抜けていく。PAH コロイドを含む水溶液中では、このバブルが外気へ抜けるまでの過程の途中で PAH コロイドがバブルを包む事によってマイクロカプセル化している。

以上のことから、PAH の濃度を変える事で中空 PAH マイクロカプセルの大きさを調整することが可能であると考え以下の実験を行った。

実験は滴定による作製で行った。炭酸ナトリウム濃度が等しく、PAH 濃度が異なる三種類の水溶液を作製し、この水溶液に対し滴定を行い、出来たカプセルに対し測定を行った。炭酸ナトリウムはこれまでの実験と同様 0.054 M とし、PAH 濃度は 0.1 mg/ml, 1 mg/ml, 5 mg/ml の三種類とした。滴定には 1 M 塩酸を用いた。

#### 5.4 結果と考察

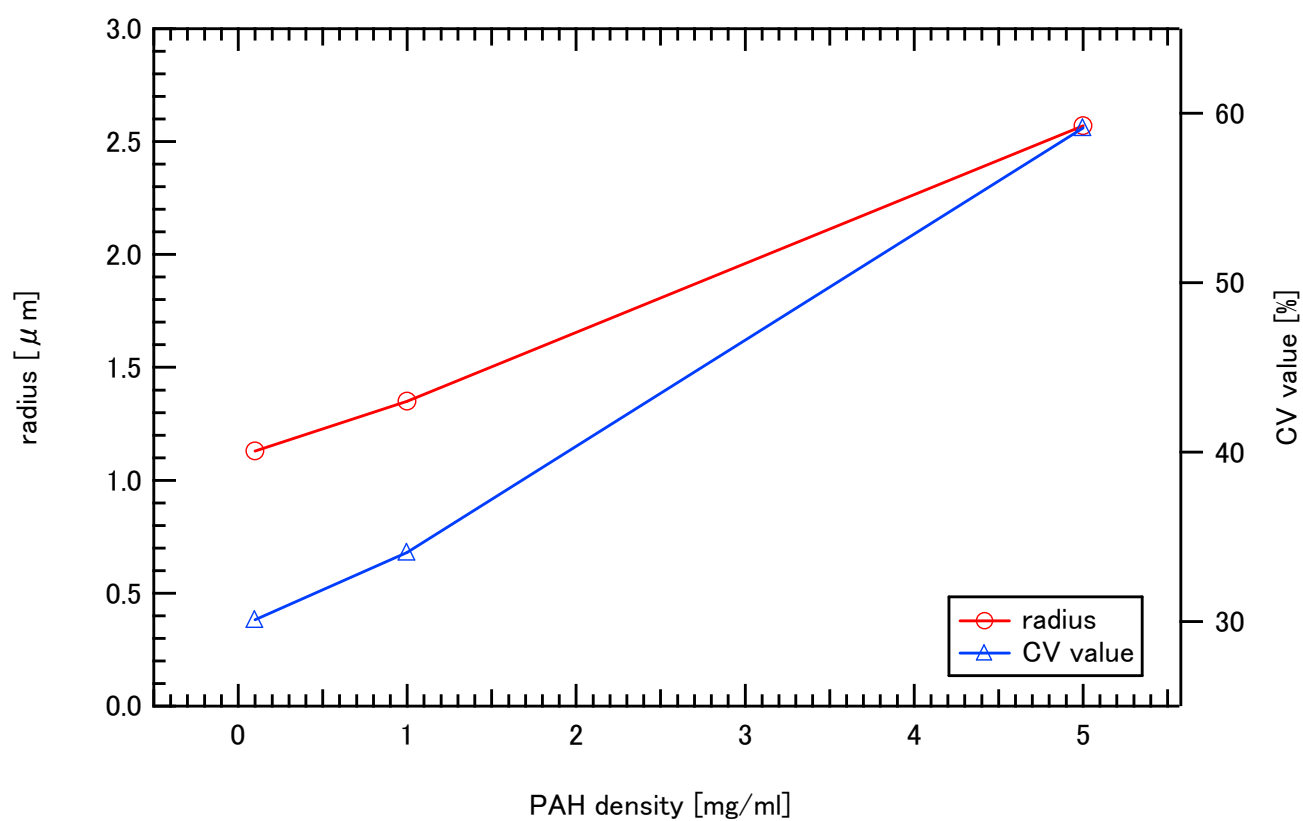
Table 5-1, Fig. 5-1 に結果をまとめた。また, Fig. 5-2 , Fig. 5-3 に 0.1 mg/ml, Fig. 5-4, Fig. 5-5 に 1 mg/ml, Fig. 5-6, Fig. 5-7 に 5 mg/ml の明視野の倒立顕微鏡画像および粒径分布をそれぞれ示す。以上結果より, PAH 濃度の増加に伴い, カプセルの径が大きくなる事が割った。さらに, PAH の濃度が増えるに従い, CV 値が大きくなっていることが分かる。CV 値は標準偏差を平均値で割った値であり, この値が小さくなるほど均一であるといえる。このことから PAH の濃度が増えるに従い, カプセルの均一性が悪くなることが分かった。

CV 値が大きくなっている事から, マイクロバブルの安定な径が大きくなっているとは考えにくい。この事から, コロイドがカプセルを包むまでの時間が遅くなったのだと考えられる。

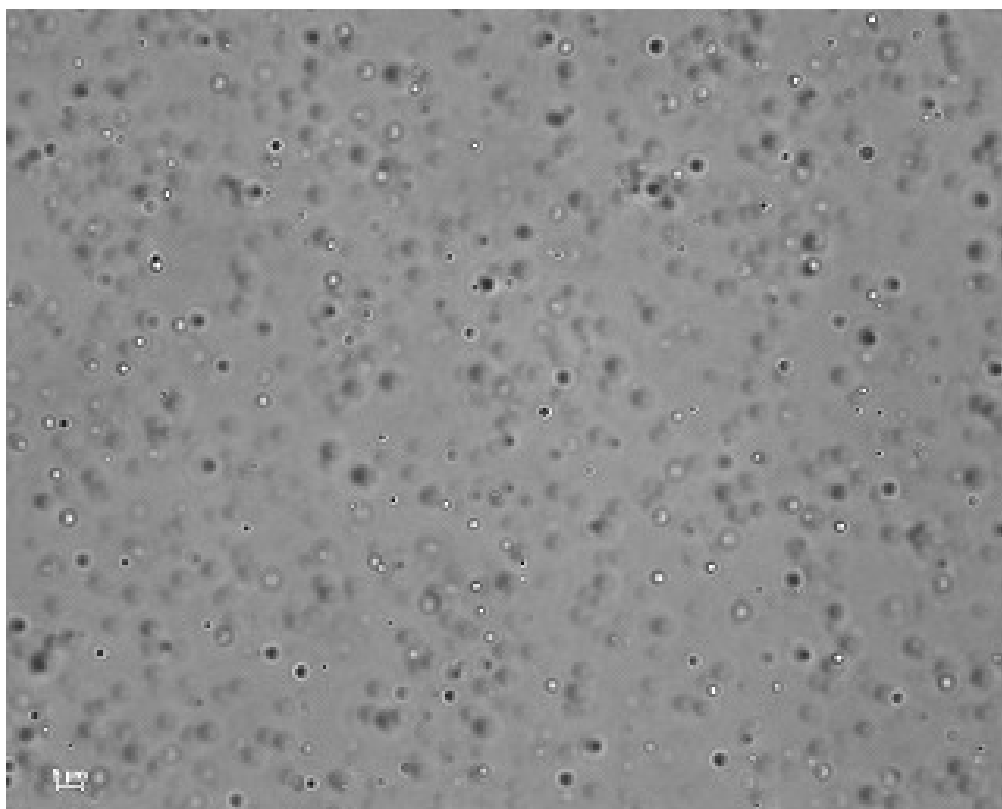
これは, 濃度が増す事によって, コロイドの平均的な大きさが増した事によって, コロイドの運動速度が低下した事が原因だと考えられる。

**Table 5-1 Measurement results of capsule diameter at each PAH concentration.**

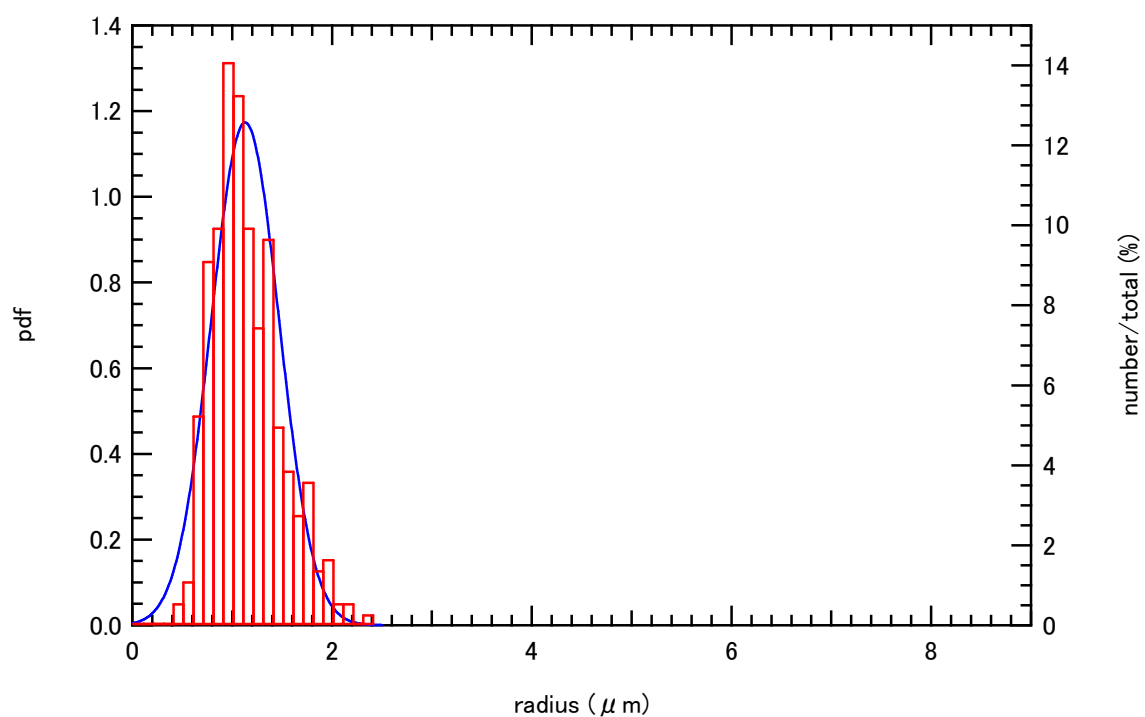
PAH density [mg/ml]	Mean radius [ $\mu\text{m}$ ]	SD [ $\mu\text{m}$ ]	CV value [%]
0.1	1.13	0.34	30.08849558
1	1.35	0.46	34.07407407
5	2.57	1.52	59.14396887



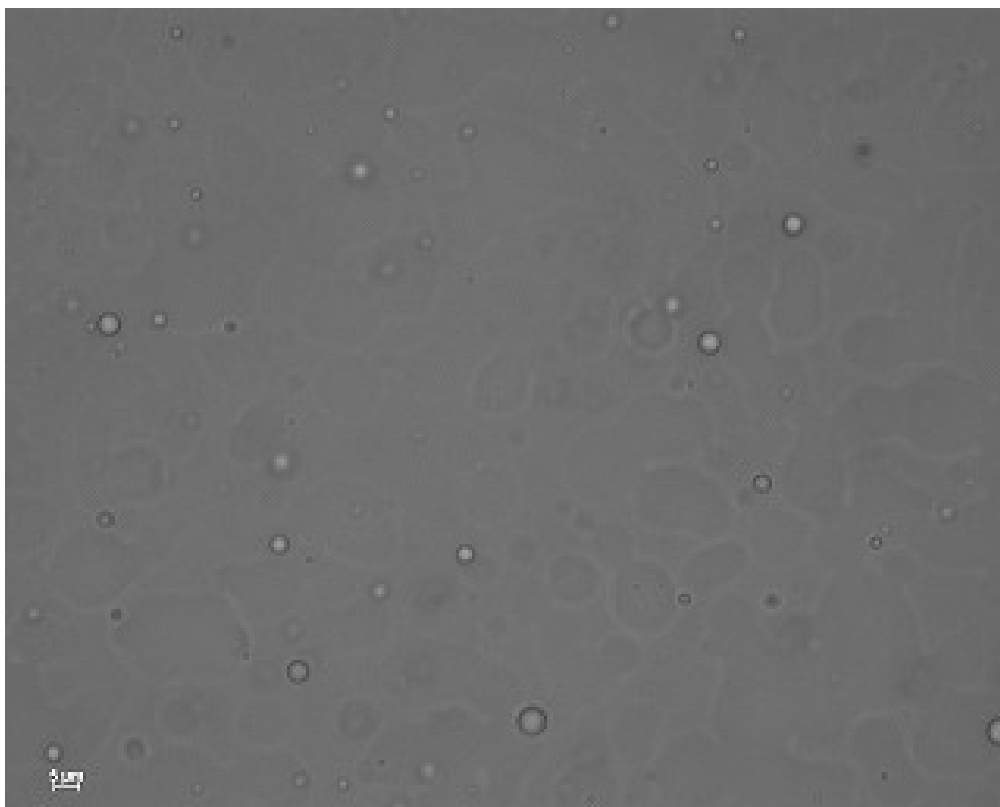
**Fig. 5-1 PAH microcapsule mean radius and CV value change in PAH density.**



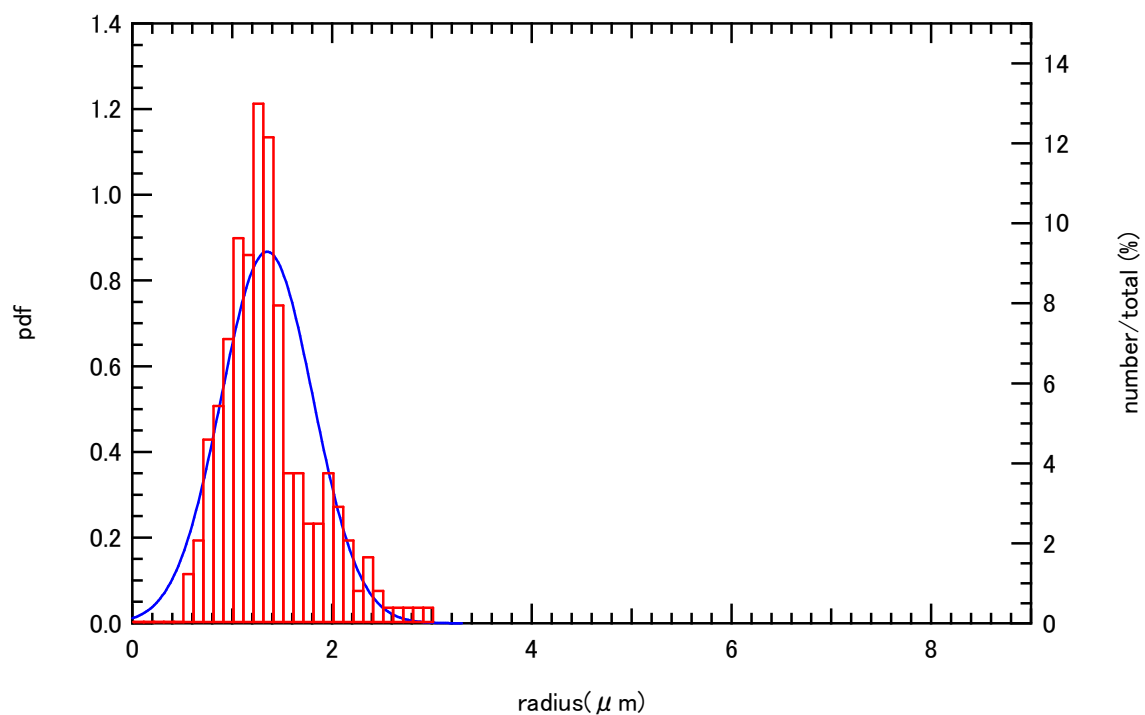
**Fig. 5-2 Bright-field image of hollow PAH microcapsules. The PAH concentration of the solution is 0.1 mg/ml.**



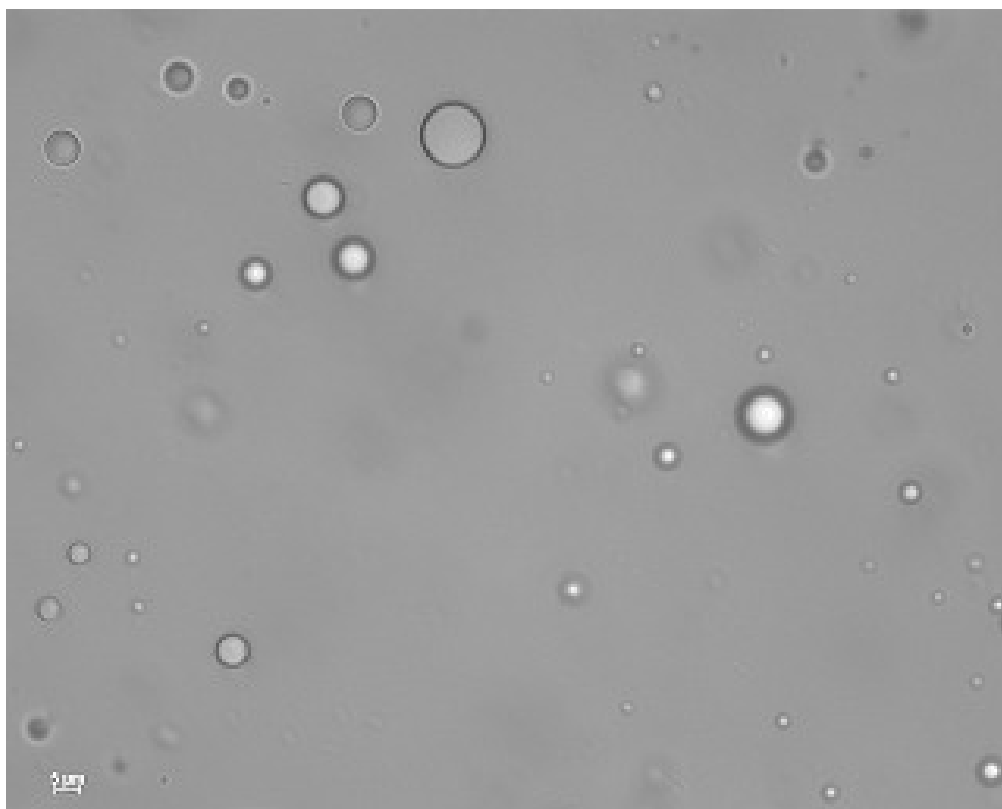
**Fig. 5-3 Radius distribution of hollow PAH microcapsules. The PAH concentration of the solution is 0.1 mg/ml.**



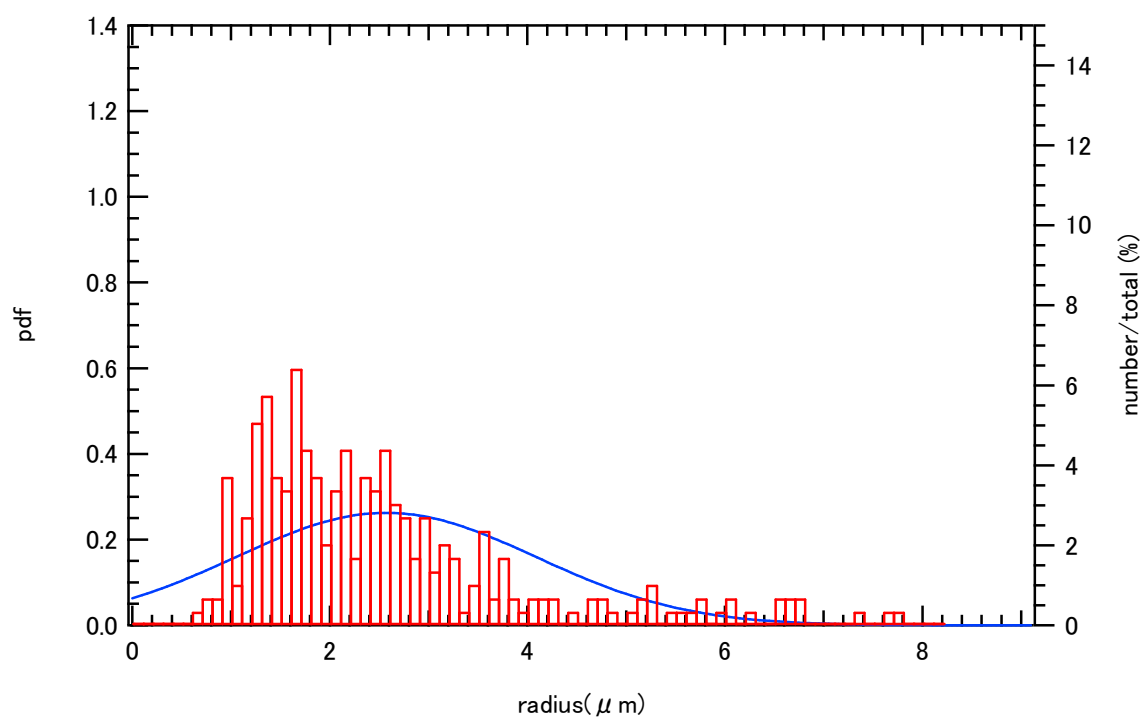
**Fig. 5-4 Bright-field image of hollow PAH microcapsules. The PAH concentration of the solution is 1.0 mg/ml.**



**Fig. 5-5 Radius distribution of hollow PAH microcapsules. The PAH concentration of the solution is 1.0 mg/ml.**



**Fig. 5-6 Bright-field image of hollow PAH microcapsules. The PAH concentration of the solution is 5.0 mg/ml.**



**Fig. 5-7 Radius distribution of hollow PAH microcapsules. The PAH concentration of the solution is 5.0 mg/ml.**



## 第6章 結論

本研究では、医療への応用、特に超音波造影剤への応用を考え、マイクロバブルをテンプレートにして電解質高分子マイクロカプセルを界面活性剤などの余分な成分を用いずに製造し、その後作成されたカプセルの分析と、その形成過程を明らかにすること、さらに、この中空 PAH マイクロカプセルを用いて、中空(PAH/PSS)マイクロカプセルを製造すること、カプセルのサイズに影響を与えるパラメータを特定することを目的とし、研究を行った。

本研究より、以下の知見を得た。

- (1) 以下の手順によって中空高分子電解質マイクロカプセルが製造された。
  1. PAH が二酸化炭素と反応し  $\text{R-NHCOO}^-$  を生成する。
  2.  $\text{R-NHCOO}^-$  と  $\text{R-NH}_3^+$  が反応し PAH コロイドを生成する。
  3. PAH コロイドの存在する溶液中でバブルが発生すると、コロイドがバブルを覆い、マイクロカプセル化する。以上より、pH を調整した PAH 水溶液を二酸化炭素で加圧、もしくは PAH を加えた炭酸ナトリウム水溶液に塩酸を加える事で、界面活性剤を用いずに中空 PAH マイクロカプセルを作製する事が可能である。
- (2) DLS, 計算を通して  $\text{R-NHCOO}^-$  と  $\text{R-NH}_3^+$  が共存する水溶液中でコロイドが生成されている事を確認した。
- (3) FTIR, 計算を通して  $\text{R-NHCOO}^-$  が生成されていることを確認した。
- (4) 本研究で提案した手法において作製した中空 PAH マイクロカプセルに対して PSS を吸着させることで中空(PAH/PSS)マイクロカプセルを作成出来、pH=6.9 においても安定なカプセルを作成することが出来た。
- (5) PAH の濃度によって中空 PAH マイクロカプセルの大きさを制御できる事が分かった。

## 参考文献

1. 近藤保他, 最新マイクロカプセル化技術, イーティーエス, 1987, 3-10
2. 田中真人, ナノ・マイクロカプセル調整のキーポイント, テクノシステム, 2008, 5-27
3. 武藤聡史, 修士論文, 2008
4. G. B. Sukhorukov, E. Donath, H. Lichtenfeld, E. Knippel, M. Knippel, A. Budde and H. Mohwald, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, 1998, **137**, 253–266.
5. T. Mauser, C. Dejugnat and G. B. Sukhorukov, *Macromol. Rapid Commun.*, 2004, **25**, 1781–1785.
6. A. I. Petrov, D. V. Volodkin and G. B. Sukhorukov, *Biotechnol. Prog.*, 2005, **21**, 918–925.
7. G. B. Sukhorukov, D. V. Volodkin, A. M. Gunther, A. I. Petrov, D. B. Shenoy and H. Mohwald, *J. Mater. Chem.*, 2004, **14**, 2073–2081.
8. D. V. Volodkin, A. I. Petrov, M. Prevot and G. B. Sukhorukov, *Langmuir*, 2004, **20**, 3398–3406.
9. A. A. Antipov, D. Shchukin, Y. Fedutik, A. I. Petrov, G. B. Sukhorukov and H. Mohwald, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, 2003, **224**, 175–183.
10. D. V. Volodkin, N. I. Larionova and G. B. Sukhorukov, *Biomacromolecules*, 2004, **5**, 1962–1972.
11. B. G. De Geest, N. N. Sanders, G. B. Sukhorukov, J. Demeester and S. C. De Smedt, *Chem. Soc. Rev.*, 2007, **36**, 636–649.
12. A. Meyer, *Chimia*, 1992, **46**, 101–102.
13. T. Chandy, D. L. Mooradian, and G. H.R. Rao, *Artif Organs*, 1999, **23**, 894–903.
14. S. Kaul, *Circulation*, 1997, **96**, 3745–3760.
15. E. G. Schutt, D. H. Klein, R. M. Mattrey and J. G. Riess, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2003, **42**, 3218–3235.
16. G. B. Sukhorukov, A. L. Rogach, B. Zebli, T. Liedl, A. G. Skirtach, K. Kohler, A. A. Antipov, N. Gaponik, A. S. Sussha, M. Winterhalter, and W. J. Parak, *Small*, 2005, **1**, 194–200.
17. R. Schlieff, T. Staks, M. Mahler, M. Rufer, T. Fritzsche, and W. Seifert, *Echocardiography*, 1990, **7**, 61–64.
18. D. Rovai and M. J. Monaghan, *Heart*, 1997, **78**, 7–11.
19. A. Raisinghani, K. S. Wei, L. Crouse, F. Villanueva, H. Feigenbaum, N. B. Schiller, J. Weiss, T. Z. Naqvi, R. Siegel, M. Monaghan, J. H. Goldman and A. DeMaria, *J. Am. Soc. Echocardiogr.*, 2003, **16**, 1037–1042.
20. J. Yao, M. Takeuchi, C. Teupe, M. Sheahan, R. Connolly, R. C. Walovitch, R. C. Fetterman, C. C. Church, J. E. Udelson and N. G. Pandian, *J. Am. Soc. Echocardiogr.*, 2002, **39**, 686–694.

21. 丸山茂夫, マイクロ・ナノ熱流体ハンドブック, エヌティーエス, 2006, 331-339.
22. Y. F. Fan, Y. N. Wang, Y. G. Fan and J. B. Ma, *Int. J. Pharm.*, 2006, **324**, 158–167.
23. G. Decher, *Science*, 1997, **277**, 1232–1237
24. P. Schuetz and F. Caruso, *Adv. Funct. Mater.*, 2003, **13**, 929–937.
25. F. Caruso, *Chem. Eur. J.*, 2000, **6**, 413–419.
26. D. G. Shchukin, K. Kohler, H. Mohwald and G. B. Sukhorukov, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2005, **44**, 3310–3314.
27. M. Winterhalter and A. F. P. Sonnen, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2006, **45**, 2500–2502.
28. R.K. Iler, *J. Colloid Interface Sci.*, 1966, **21**, 569-594.
29. G. Decher, *Science*, 1997, **277**, 1232-1237
30. E. Donath, G. B. Sukhorukov, F. Caruso, S. A. Davis and H. Möhwald, *Angew. Chem. Int. Ed.* 1998, **37**, 2201-2205.
31. Y. Lvov, A. A. Antipov, A. Mamedov, H. Möhwald, and G. B. Sukhorukov, *Nano Lett.*, **2001**, **1**, 125-128.
32. G. B. Sukhorukov, A. Fery, M. Brumenb and H. Möhwald, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2004**, **6**, 4078-4089.
33. O. I. Vinogradova, *J. Phys.: Condens. Matter*, **2004**, **16**, 1105–1134
34. K. P. Xiao, J. J. Harris, A. Park, C. M. Martin, V. Pradeep and M. L. Bruening, *Langmuir*, 2001, **17**, 8236–8241.
35. J. M. Levasalmi and T. J. McCarthy, *Macromolecules*, 1997, **30**, 1752–1757.
36. L. Krasemann, A. Toutianoush and B. Tieke, *J. Membr. Sci.*, 2001, **181**, 221–228.
37. N. McCann, D. Phan, X. Wang, W. Conway, R. Burns, M. Attalla, G. Puxty and M. Maeder, *J. Phys. Chem. A*, 2009, **113**, 5022–5029.
38. A. I. Petrov, A. A. Antipov and G. B. Sukhorukov, *Macromolecules*, 2003, **36**, 10079–10086.
39. 国立天文台, 理科年表, 丸善株式会社, 1989, 454
40. P. Król and Z. Wietrzyńska-Lalak, *Eur. Polym. J.*, 1995, **31**, 689–699.
41. P. Jackson, K. Robinson, G. Puxty and M. Attalla, *Energy Procedia*, 2009, **1**, 985–994.
42. M. Falk and A. G. Miller, *Vib. Spectrosc.*, 1992, **4**, 105–108.
43. Zh. S. Nickolov, O. Ozcan and J. D. Miller, *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Aspects*, 2003, **224**, 231–239.
44. K. Karmali, A. Karmali, A. Teixeira, and M. J. Marcelo Curto, *Anal. Biochem.*, 2004, **331**, 115–121.