

## 研究成果報告

### ゲル固定化手法を用いたコロイド粒子少数多体系の相挙動の研究 Phase Behavior of Colloidal Systems Consisted of Small Numbers of Particles Examined by Gel Immobilization Method

代表研究者 名古屋市立大学大学院 山中淳平  
Graduate School of Nagoya City University, Junpei YAMANAKA

Colloidal systems have attracted considerable attention as a model condensed matter to study phase behavior of atomic and molecular systems in general. Thus far, however, most of the studies focused on the bulk colloidal system, which consisted of large numbers of particles. As seen in ultra-fine particles, systems including small numbers of constituents exhibit peculiar properties, e.g., significantly lower melting temperature than that for the bulk system. As a model for such system with small numbers of constituents, here we constructed microscopic colloidal dispersions consisted of ~100 to ~1000 particles, by confining them in giant liposome (GL) having diameters of about 10 - 150  $\mu\text{m}$ . They were obtained by preparing the GL from cast film of lecithin in aqueous dispersion of the polystyrene particles, and by immobilizing the GL in polymer hydrogel matrix. The crystallization behavior of the confined colloid was examined by applying confocal laser scanning microscopy and phase contrast microscopy. We studied two types of crystallization, that is, formations of opal crystals due to sedimentation of the particles, and charge-stabilized crystals. In both cases the crystallization was more suppressed for smaller GL, in other words, for systems containing smaller numbers of particles.

#### 研究目的

コロイド系は、1) 構成単位である粒子のサイズが大きいこと、一粒子及びその高次構造を光学顕微鏡により観察可能であること、2) 相転移の駆動力である粒子間相互作用の大きさが広範囲に可変であること、3) 特性時間が長いこと、相挙動のその場実時間観察が容易であること、などの利点を持ち、原子・分子系の相転移全般に対するモデル系として、基礎研究の対象となってきた。しかし従来は、多数のコロイド粒子から構成される、バルク系に関する検討が殆どであった。一方、超微粒子に見られるように、少数の原子から構成される系は、融点降下など、少数多体系特有の興味深い挙動を示すため、そのモデル系として、少数の粒子からなるコロイド系を構築することは意義深い。本研究では、100~1000 個程度の少数のコロイド粒子が直径 10~100  $\mu\text{m}$  程度の球状の

微小空間内に分散した実験系を構築し、この拘束空間中でのコロイド系の相挙動を検討することを目的とする。種々の実験系を検討した結果、サブミクロン～ミクロンサイズのポリスチレン粒子を、直径およそ数 10~150  $\mu\text{m}$  のジャイアントリポソーム (GL) の内水相中に拘束し、さらに GL をゲル固定した試料を用いることで、上述の微視的な分散系の構築に成功した。

この拘束されたコロイド系に対し、粒子が微小液滴中にランダムに分散した状態から、規則配列する挙動 (結晶化) を検討した。(コロイド結晶は可視～近赤外域に Bragg 波長を持つため、近年、フォトニック結晶として材料展開にも注目が集まっている。) 本研究では、これまでバルク系において多くの知見が集積されている、1) 粒子の堆積によるオパール型の最密充填型結晶、および 2) 粒子間の長距離静電相互作用により形成される、非最密型の結晶 (荷電コロイド結晶) について検討を加えた。

## 研究経過

### 1. GL によるコロイド粒子の拘束

脂質が水中で自己集合して形成するリポソームのうち、特に光学顕微鏡で観察可能な数  $\mu\text{m}$  から数 100  $\mu\text{m}$  までのサイズを持つものをジャイアントリポソーム (GL) と称する。脂質として大豆由来のレシチンを用い、そのキャスト膜上に荷電ポリスチレン粒子分散液 (粒子直径  $d_p = 0.6, 0.97, 2.0$  および  $3.1 \mu\text{m}$ 、透析およびイオン交換法により精製・脱塩) を添加したのち静置する手法 (単純水和法) により、GL を作成した。光学顕微鏡による一粒子観察 (後述) により、GL 内部での粒子の拘束の有無を確認した。 $d_p = 3.1 \mu\text{m}$  では粒子は GL 外水相に分布し、拘束は認められなかったが、それ以下の  $d_p$  を持つ粒子に対しては、分散液中の粒子の一部が GL 内部に拘束された。粒子を内包しない GL も同時に多数生成し、粒子内包 GL の数は、全 GL のおよそ 10% であった。粒子非内包 GL は、内水相の体積が小さい、多重膜構造を持つ可能性がある。

光学顕微鏡像の解析により、GL の直径  $d_L$  の分布を計測した。対照として水を用いた場合、 $d_L$  の分布は対数正規型であり、平均値  $\sim 30 \mu\text{m}$ 、最大  $\sim 200 \mu\text{m}$  であった。ポリスチレン粒子共存下で GL を生成させたとき、上述のいずれの  $d_p$  を持つ粒子に対しても、また粒子濃度  $C_p$  を 0.3~3 vol% の範囲で変化させたときも、粒径分布は対数正規型であった。用いたレシチン量やコロイド分散液中のイオン強度によっては、GL サイズ分布はほとんど影響を受けなかった。一方、 $d_p$  および  $C_p$  に著しく依存し、 $C_p$  の増加に伴い、 $d_L$  の極大値は小粒径側にシフトした。このように、粒子を内包したとき安定に存在し得る GL のサイズには制限があるが、同一試料中で  $d_L$  は 1~2 桁にわたり分布しており、本系を用いてコロイド系の物性に対する構成粒子数の影響を系統的に検討できることが示唆された。なお、GL は水中で Brown 運動を示すため、その内部構造を共焦点レーザー स्क्यान顕微鏡 (CLSM) 等で詳細に観察する為には、構造の固定化が必要である。以下に述べるように、オパール型結晶にはアクリルアミド系の高分子ゲル、荷電コロイド結晶についてはアガロースゲルを用いて、GL を固定した。

## 2. 拘束空間中でのオパール型結晶の形成

GL 内部に拘束された粒子の空間分布は、 $d_p$  値に依存して変化した。すなわち、 $d_p = 0.6 \mu\text{m}$  では拘束粒子は非最密型であり、粒子の Brown 運動が観察されたのに対し、 $d_p \geq 0.97 \mu\text{m}$  では多くの GL 中で粒子の一部が、密充填のオパール型結晶領域を形成した。Fig.1 に  $d_p = 2 \mu\text{m}$  の粒子が形成するオパール結晶の顕微鏡画像の一例を示す。

\*\*\*\*\* Fig.1 を挿入、横幅 6.5 cm \*\*\*\*\*

さらに、結晶の内部構造評価のため、蛍光色素含有ポリスチレン粒子 ( $d_p = 2 \mu\text{m}$ ) を拘束した GL に対し、CLSM により深さ方向に  $1 \mu\text{m}$  間隔で 3 次元スライス画像を得たところその内部でも結晶配列が確認できた。なお、CLSM 観察にあたり、アクリルアミド系モノマーを用いた光硬化性ゲル化剤により、試料を固定した。その際 GL の内水相もゲル固定されている。種々のサイズの GL 中で形成された結晶について、定量的な評価を進めているが、大きなサイズの GL では、より大きな領域で結晶構造が生成する傾向が明瞭に認められる。

バルク分散液を用いて粒子の沈降速度  $v$  を測定したところ、 $d_p \geq 0.97 \mu\text{m}$  では  $v$  は十分大きく、かつ、剛体球粒子に対する Stokes の理論値と良好な一致を示した。即ち本実験条件下ではポリスチレン粒子は剛体球と見なせ、沈降によりオパール型の結晶を形成するものと考えられる。また  $\text{H}_2\text{O}/\text{D}_2\text{O}$  混合系 (56/44 v/v) を用いてポリスチレンと比重マッチングを行った場合には、GL 内部の粒子は非最密充填であり、Brown 運動を示した。これらの結果より、十分大粒径の粒子に対しては、GL 調製時に粒子がレシチンのキャスト膜上に沈降したのち、脂質膜が粒子を包み込み、GL を形成したものと推測される。

## 3. 拘束された荷電コロイド系

実験に用いたポリスチレン粒子は、重合開始剤末端に由来するスルホン基や硫酸基などの強酸基を表面に持つ。このため粒子間には静電相互作用が働き、イオン強度を十分低く ( $\mu\text{M}$  オーダー) 保つと、粒子は粒子間に距離を隔てて結晶状に配列する。例えば、沈降結晶化が生じない  $d_p = 0.6 \mu\text{m}$  では、イオン強度  $I = 2 \mu\text{M}$  において、 $C_p \sim 1.5 \text{ vol}\%$  以上の粒子濃度でコロイド結晶が形成される。しかしリン脂質であるレシチンは分散液のイオン強度を増加させるため、2. 項で用いた実験系では、結晶化は確認できなかった。そこで、ゲルマトリクス中に GL を固定した後、界面活性剤 (Triton-X) を用いてレシチンを除去した後十分洗浄し、ゲル内部の空孔にポリスチレン粒子を拘束した実験系を構築した。なお、ゲル固定のさいアクリルアミド系ゲル化剤を用いると GL の内水相に侵入し、内部の粒子も固定される。これに替わって、高分子系ゲルであるアガロースを用いることで、GL の外水相のみを選択的にゲル固定出来た。ゲル網目は粒子サイズに比べて十分小さく、本系は粒子を拘束するが、低分子に対しては開放系であり、水中に浸せきすることで脱塩が可能である。種々の  $C_p$  において検討を行ったところ、 $I = 2 \mu\text{M}$  において、バルクでの結晶化条件下

( $C_p \sim 3 \text{ vol}\%$ ) においても粒子は Brown 運動を示し、結晶化は生じなかった。この知見は、少数の粒子からなる系においては、結晶化が抑制されることを示唆する。

## 考察

本研究の最終的な目標は、コロイド系の相挙動に対する構成粒子数の影響を実験的に明らかにすることである。オパール結晶に関して、現在 3 次元画像の解析から、粒子数および結晶の乱れの評価と、その構成粒子数の影響について検討を進めている。予備的には、すでに上に述べたように、GL サイズが大きい（構成粒子数が大きい）とき、乱れの少ない結晶構造が得られることが明らかになっている。

荷電コロイド系に対する上述の実験系では、およそ 600 個の粒子より成る系を対象としている。金属超微粒子の融点は、粒子サイズの減少（構成する原子数の減少）に伴って低下することが知られており、例えば、バルクの金の融点は 1350 K であるのに対し、直径 2 nm の金微粒子は 500 - 700 K が融点である。このとき微粒子を構成する金原子数は 400 - 500 個であり、本実験系におけるコロイド粒子数と同程度であることは興味深い。構成粒子数による相挙動の変化について、今後さらに定量的に検討を加える予定である。

## 研究発表

(口頭発表)

1. 佐々木貴裕 山中淳平 米勢政勝  
「コロイド少数多体系の相挙動」  
日本薬学会第 125 年会 (2004 年 3 月、東京)
2. 佐々木貴裕 山中淳平 米勢政勝  
「リポソームにより拘束したコロイド粒子分散系の構築」  
第 58 回コロイドおよび界面化学討論会 (2005 年 9 月、宇都宮)

(紙上発表)

1. Takahiro Sasaki, Junpei Yamanaka, Masakatsu Yonese  
"Colloidal Crystal Confined in Giant Liposome"  
in preparation.

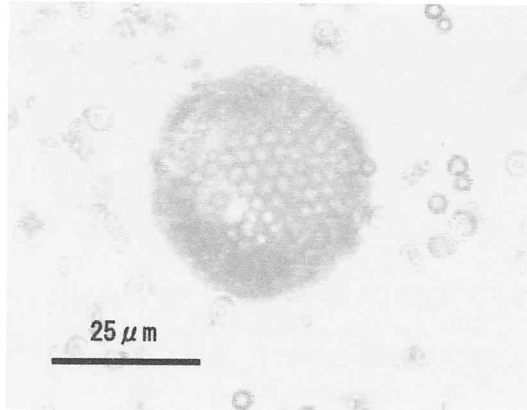


Fig. 1 Micrograph of polystyrene particles (the diameter =  $2\mu\text{m}$ ) confined in a giant liposome, exhibiting the opal-type crystalline order.