

専攻名	化学
学籍番号	201430095
学生氏名	佐藤 辰巳
学位名	博士（理学）
指導教員	中谷 清治

博士論文題目 Studies on Intraparticle Diffusion in Mesoporous Microparticle/Water Systems by
Confocal Fluorescence Microspectroscopy
(共焦点顕微蛍光法によるメソ多孔質微粒子／水系における粒子内拡散の研究)

Chapter 1. General Introduction

Chapter 2. Single Microparticle Manipulation and Microspectroscopy

Chapter 3. Single Microparticle Manipulation and Confocal Fluorescence Microspectroscopy of
Rhodamine 6G Distributed in Mesoporous Silica Gel

Chapter 4. Intraparticle Diffusion of Rhodamine 6G in Mesoporous Silica Gel

Chapter 5. Confocal Fluorescence Recovery after Photobleaching of a Dye Distributed in Single
Mesoporous Microparticles

Chapter 6. Intraparticle Diffusion of Coumarin 102 in ODS Silica Gel in the Presence of a Surfactant

Chapter 7. Conclusions

第一章 序論

メソ細孔内における溶質の物理的・化学的挙動は、そのサイズによる配座の固定や壁となる固体との相互作用が大きく働くことから、大きな固／液界面系とは異なることが知られている。種々の有機・無機化合物から形成される多孔質固体は、内部にナノメートルサイズの細孔を巡らせることで、独特の微小空間を提供する物質として注目されており、近年は機能的に改質した多孔質固体の開発が盛んに行われている。このような多孔質固体内部を反応場とする利用の他、その比表面積の大きさから固相抽出やクロマトグラフィーの担体としても利用されている。一方で、固体細孔が関与する動的過程の速度論において主要な過程となる可能性が高い固体細孔内物質輸送過程について、その定量的な知見は未だ不十分である。

本研究では多孔質固体が関与する系の速度論的過程の中でも、汎用性の高い多孔質（修飾）シリカゲル微粒子の細孔内物質輸送過程に着目し、その動的過程の定量的な解析法の提案と、具体的水溶液浸漬系での細孔内物質輸送過程の考察を行った。

第二章 単一微粒子操作-顕微分光法

単一微粒子系では界面過程が単純化するため、粒子内部における現象を追跡しやすい観測系となるが、その分光分析のためには粒子が光透過性をもつ必要がある。溶液中に浸漬した細孔径 6.4 ~ 12 nm の球状シリカゲルの単一微粒子は、可視光に対して良好な透過性を示しており、顕微分光法によって 380 ~ 650 nm の吸収スペクトル、および 406 nm の CW レーザーを励起光源とする蛍光スペクトルを観測でき、また共焦点蛍光顕微鏡（Olympus, FV1000-D）の使用によって粒子内における蛍光強度の空間分布が観測できた。

第三章 メソ多孔質シリカゲル中に分配したローダミン 6G の単一微粒子操作-共焦点顕微蛍光分析

分子の位置情報を非破壊的かつリアルタイムに観測することができる共焦点顕微蛍光分光法による観測は、対象の内部状況の把握や、物質移動に関する情報を得る強力なツールとなる。しかし、この観測により直接得られる情報は化合物由来の蛍光であることから、分子固有の光化学特性の他、分解能などの光学的な制約

による影響を含む。本章では光学上の影響を定式化し、観測結果との逆畳み込みによる溶質濃度分布の導出法を提案し、実際に二種類の製法が異なるシリカゲル粒子（SG-I：通常のゾル-ゲル法で形成、SG-II：w/o エマルジョンを介したゾル-ゲル法で形成）への適用を行った。

pH 2 の $1 \times 10^{-7} \text{ M}$ ローダミン 6G (Rh6G) 水溶液中 (5 cm^3) に、微粒子一粒を添加した際に得られる粒子内の鉛直方向の蛍光強度分布は、いずれの試料も粒子が存在する領域内で蛍光強度の増加が生じ、1000 秒までには濃度変化が停止し平衡状態に達した。その時の蛍光強度分布は SG-I で均一となった一方で、SG-II では中心部の蛍光強度が弱いことを示した。SG-I のような平衡時の蛍光強度分布は、微粒子内部で均一な吸着が生じたためであると解釈できるため、これを溶質濃度分布既知の系と仮定して光学的な影響の定式化を行った。まず、粒子半径 r_p の粒子内における均一な溶質濃度分布は、鉛直方向の座標 $Z(\mu\text{m})$ に対する矩形型の濃度分布 $F(Z)$ として表現した。

$$F(Z) = 0 \text{ (at } Z < -r_p, r_p < Z \text{) or } 1 \text{ (at } -r_p \leq Z \leq r_p \text{)} \quad (3-1)$$

この濃度分布と観測された蛍光強度分布の差が光学的な影響に相当することになるが、この要因は焦点近傍の位置から放たれた蛍光の広がり、焦点における蛍光として含んでいるためであると仮定した。ある一点から発せられる蛍光の光強度分布はガウス型の関数形で表示できることから、各地点 z において観測される蛍光分布は式 3-2 で記述される。

$$E(z) = \exp\{-(z - Z)^2 / 2\sigma^2\} \quad (3-2)$$

SG-I 粒子系における分配平衡時の蛍光強度分布は、広がり程度のを示すパラメータ σ を $0.787 \mu\text{m}$ とすることでよく一致した。このパラメータは同じ観測系で類似した組成の物質を対象とした場合に同じ値をもつと推測できるため、SG-II の溶質濃度分布を逆畳み込みにより求めた。ここでは検出されるノイズの影響を除外するため、式 3-3 に従う溶質濃度分布になると仮定し、観測結果との比較によりパラメータを決定した。

$$F(Z) = 0 \text{ (at } Z < -r_p, r_p < Z \text{) or } \{(1 - F_0)/r_p^2\}Z^2 + F_0 \text{ (at } -r_p \leq Z \leq r_p \text{)} \quad (3-3)$$

解析の結果、SG-II 内容質濃度分布は、粒子中心において外表面近傍の 0.7 倍程度の量であることが確認された。SG-II は w/o エマルジョンを経ることで真球度を高めた製造法で形成されているが、この形成過程の中で中心に向かうほど細孔の数、あるいは細孔径が減少するような寄与が存在していたことが推測された。

均一な細孔分布を有すると推定された SG-I 粒子内における輸送過程の速度論については、実験系をモデル化して、バルク相および粒子内における拡散方程式 (式 3-4)、および粒子/バルク溶液界面における分配過程 (式 3-5) を有限差分法で解くことで解析した。

$$\partial C_i(r, \theta, t) / \partial t = D_i \{ (1/r^2) \partial / \partial r (r^2 \partial C_i / \partial r) + 1/(r^2 \sin \theta) \partial / \partial \theta (\sin \theta \partial C_i / \partial \theta) \} C_i(r, \theta, t) \quad (3-4)$$

$$\partial C_p(r_p, \theta, t) / \partial t = K_L C_{p,L} C_w(r_p, \theta, t) / (1 + K_L C_w(r_p, \theta, t)) \quad (3-5)$$

D_i ($i = p, w$) はそれぞれ粒子、バルク溶液中における Rh6G の拡散係数、 K_L は Langmuir 型の吸着状態を仮定したときの吸脱着平衡定数、 $C_{p,L}$ は飽和吸着量を示す。境界条件として、粒子が沈む観測容器底面に相当する座標 ($r_p / \cos(\pi - \theta)$) 以遠における溶質濃度変化は常にゼロとした。 D_w を文献値 ($4 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$)、 K_L および $C_{p,L}$ を粒子内および浸漬溶液の吸収スペクトル測定により求めた値を使用し、空間刻み Δr を $1 \mu\text{m}$ 、時間刻み Δt を 0.001 秒として求めた各時点における溶質濃度分布に式 3-2 と畳み込んで得られた蛍光強度分布は、 $D_p = 5 \times 10^{-9} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ としたときに、観測結果とよく一致した。これにより、粒子内部における移動過程の追跡が可能となった。

第四章 メソ多孔質シリカゲル中におけるローダミン 6G の粒子内拡散

ポア-表面拡散モデルによると、粒子内の溶質が移動する過程は、その溶液中を移動するポア拡散と細孔壁に沿って移動する表面拡散の寄与の線形和で表される。支配的な輸送過程の検討は、解析で得られる見かけの拡散係数 D_p の分配係数 R 依存性により判断できる（式 4-1）。

$$D_p = D_w H \{\tau_w(1 + R)\} + D_s R \{\tau_s(1 + R)\} \quad (4-1)$$

ここで D_w はバルク溶液中拡散係数、 D_s は表面拡散係数であり、 τ_w 、 τ_s はそれぞれポア拡散と表面拡散の屈曲率を表す。また H はサイズ効果を反映する障壁パラメータである。本章では Rh6G のシリカゲルへの分配が主に解離シラノール基への吸着を介していることを利用し、浸漬溶液の液性変化による分配係数の制御を試みた。検討の結果、水と混和する有機溶媒である 2-プロパノールの添加に伴い分配係数 R_{Rh6G} が減少する傍ら、Rh6G 自体の性質は単量体のまま変化していない様子が確認され、同一化学種の輸送過程として比較可能である系と判明した。そこで本研究では、2-プロパノール（0, 0.1, 0.2 および 0.5 M）を含む pH 2 の Rh6G 水溶液を浸液とした単一微粒子系での分配過程を共焦点顕微蛍光分光法で追跡し、その結果を第三章で確立した手法に基づいて拡散係数 D_p を導出し、輸送速度の比較を行った。

実測値の D_p vs. $(1+R_{Rh6G})^{-1}$ のプロットは直線性を示し、式 4-1 の関係性を反映することが確認された。この直線の切片は表面拡散の寄与 (D_s/τ_s)、傾きは双方の寄与 ($D_w H \tau_p - D_s/\tau_s$) を表すが、見積もられた表面拡散係数 D_s は $\sim 10^{-10} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ 未満となり、 D_p より非常に小さく支配的過程にはなり得ないことが明らかとなった。ポア拡散の屈曲率 τ_w は 1.5～2.3 と推定されているが、この値を 1.5 とすると、直線の傾きから見積もられる H の値は 0.43 となった。Renkin の理論により、 H を溶質のサイズ (1.2 nm) と細孔径 (6.5 nm) により計算すると、その値は 0.42 となり、本実験による値とほぼ一致した。以上より、蛍光強度分布のデータを基にした解析法の有効性を実証できたとともに、シリカゲル／水系でのイオン輸送過程がポア拡散支配であることが確認できた。

第五章 単一メソ多孔質粒子に分配した色素の共焦点光褪色後蛍光回復分析

シリカゲル／水系における粒子細孔内拡散過程は遅いため、分配過程の追跡により細孔内拡散過程の検討が可能であった。しかし先行研究において、ODS シリカゲル／水系における難水溶性化合物の放出過程は、バルク相中での溶質拡散が律速段階であり、細孔内拡散過程の定量的な検討ができずにいた。本章では、多孔質固体内の一部を任意に褪色させて非平衡状態を形成し、その回復過程を追跡する光褪色後蛍光回復法 (FRAP) を用いて、粒子内部の輸送過程のみを反映する観測と、3 次元的な空間分布をもつ光反応過程まで考慮した非定常拡散モデルによるシミュレーションとの比較により、細孔内拡散過程の検討を行った。

FRAP による観測・解析が拡散過程を反映する正当な手法であるかどうかの確認は、第 3 章において検討したシリカゲル／水系における Rh6G の細孔内拡散過程を既知の観測系とすることで行った。褪色は半径 1.6 μm の円筒内を 50 mW の 405 nm CW レーザーと 25 mW の 473 nm CW レーザーを 0.1 秒間同時に照射することで行い、そこから 0.3 秒後の蛍光強度分布の観測によって褪色範囲を確認した。また同様の条件で、焦点を粒子の中心に固定して約 0.1 秒ごとの蛍光強度を観測し、蛍光回復を追跡した。観測された蛍光回復曲線は FRAP 法に適したシミュレーション計算結果と比較し、拡散係数 D_p の値を算出した。本手法によって見積もられた拡散係数は、分配過程の追跡において見積もられた粒子内拡散係数の値と一致したことで、本解析法の正当性が確認された。

以上の測定および解析法を利用し、ODS シリカゲル／水系におけるクマリン 102 (C102) の細孔内物質輸送過程を観測および解析すると、細孔内拡散係数 D_p はシリカゲル／水系の細孔内 Rh6G 拡散係数よりも大きく、先行研究の結果に矛盾しない結果が得られた。また、細孔内拡散過程をポア-表面拡散モデルに基づいて考察すると、この拡散係数は理論的に計算されるポア拡散項の値より非常に大きかったことから、細孔内物質輸送過程が表面拡散支配であったことを明らかにした。

第六章 界面活性剤存在下における ODS シリカゲル中におけるクマリン 102 の粒子内拡散

先行研究において、ODS シリカゲル／水系における C102 の放出速度は、同時に添加した非イオン性界面活性剤であるトリトン X-100 濃度に依存し、バルク相における拡散が律速になると結論された。一方で、両親媒性分子は溶質としての性質により細孔内拡散過程に影響を与える可能性が考えられたが、この過程は速いために分配・放出過程の観測による検討ができていなかった。本章では第五章において確立した FRAP 法を用いた測定・解析を行い、細孔内拡散過程の考察と系全体における物質輸送過程の検討を行った。また挙動の比較として、イオン性界面活性剤であるドデシルスルホン酸ナトリウムおよび臭化ドデシルトリメチルアンモニウムを添加した場合の観測も行った。

第七章 結論

メソ細孔を有するシリカゲルを含む単一微粒子系に対して粒子内における溶質濃度の経時変化を追跡し、粒子細孔内の物質輸送過程の検討を行う上で、共焦点蛍光顕微鏡による蛍光強度分布の追跡による検討を可能にする速度論的な解析法を提案し、具体的にシリカゲル／水系におけるカチオン性色素 Rh6G、および ODS シリカゲル／水系における難水溶性色素 C102 の観測を行い、細孔内物質輸送過程を定量的に検討した。このような解析結果と電子スペクトルによる吸着形態の考察との組み合わせにより、詳細な細孔内輸送過程を解明した。ここで得られた解析法や細孔内物質輸送の知見は、多孔質固体の利用における速度論的検討に貢献できるものと結論できる。

発表論文

1. T. Sato and K. Nakatani, *Analytical Sciences*, Vol.**33**(2), 179-183 (2017).
2. T. Sato, K. Hata and K. Nakatani, *Analytical Sciences*, in press.