

ノ ー ト

単一オクタデシルシリルシリカゲル微粒子/水系における 界面活性剤の移動過程の顕微蛍光分析

中谷 清治^{*1}, 松田 恵美¹, 川崎 由記¹

1 緒 言

多孔性物質/溶液系における物質移動過程の研究は、固相抽出やクロマトグラフィー、汚染土壌浄化、ドラッグデリバリーシステム等に関連し重要である¹⁾²⁾。多孔性物質/溶液系における物質移動過程は、溶液相における溶質の拡散、多孔性物質の表面・細孔内での吸脱着や拡散等からなり複雑である。そのため、これら素過程を分離して観測し速度論的に解析するため、クロマトグラフィー系におけるパルス応答実験や局所領域の速度論的実験などの試みがなされている^{3)~8)}。著者らは溶液中に単一多孔性微粒子のみ存在する系では、溶液バルク相と粒子表面間での溶質の物質移動過程は静止条件下で定常的な球拡散となり取り扱いが容易となること、単一粒子のみを顕微分光計測することで粒子内部まで細孔内吸脱着などを繰り返して取り込まれる過程（収着過程）や粒子から溶液バルク相に放出される過程（放出過程）を観測できることを利用して、多孔性粒子/溶液系における物質移動過程の研究を進めている⁶⁾⁹⁾。その中で界面活性剤存在下での多孔性粒子/水系の物質移動過程は、難水溶性有機化合物の土壌浄化や分離・抽出に関連し重要であると考えている^{10)~13)}。著者らは多環芳香族有機化合物であるペリレンが収着したオクタデシルシリル (octadecylsilyl, ODS) シリカゲルの単一粒子を 4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェニル-ポリエチレングリコール {トリトン X-100 (Triton X-100, TX-100)} 水溶液に添加し顕微吸光測定することで、ペリレン放出速度は TX-100 ミセルの粒子表面からの脱着に関連することを報告した¹⁴⁾。また、ODS シリカゲル/水系でクマリン 102 と TX-100 が収着平衡にある粒子を TX-100 水溶液に添加し共焦点顕微蛍光測定することで、クマリン 102 の放出速度は粒子表面からバルク水相への拡散が律速であることを報告した¹⁵⁾。しかしながら、これらの系では TX-100 の水相から粒子への物質移動は考察できなかつた。界面活性剤は可視領域に吸収を持たず、また蛍光性でないものが多く、顕

微分光測定で界面活性剤の直接観測は困難である。

ODS シリカゲル/水系でクマリン 102 が収着平衡にある粒子を TX-100 水溶液に添加しクマリン 102 の放出挙動を観測したところ、クマリン 102 と TX-100 が共に収着平衡にある粒子からのクマリン 102 放出挙動¹⁵⁾と大きく異なり、TX-100 の物質移動が観測できることが示唆された。本論文では、クマリン 102 を蛍光プローブとして TX-100 の水相から ODS シリカゲルへの物質移動過程を速度論的に解析した結果を報告する。

2 実 験

球状 ODS シリカゲル (和光純薬工業製, Wakosil40C18, 粒子直径 (d): 20~60 μm , 細孔直径: 12 nm, 細孔容積: 1.0 $\text{cm}^3 \text{g}^{-1}$, 比表面積: 330 $\text{m}^2 \text{g}^{-1}$) を *N,N*-ジメチルホルムアミド (*N,N*-dimethylformamide, DMF) に 1 日以上分散させたのち、 $2.3 \times 10^{-6} \text{mol L}^{-1}$ のクマリン 102 (和光純薬工業製, laser grade) を含む DMF-水混合溶媒 (DMF の重量百分率 50%) に移し 1 日以上浸漬させた。共焦点レーザー走査型顕微鏡 (オリンパス製, FV 1000-D) 下でマイクロキャピラリー-マニピュレーション-インジェクションシステム (ナリシゲ製, MN-151/IM-16) を用いて、DMF-水混合溶媒中の ODS シリカゲル単一粒子を TX-100 (シグマ・アルドリッチ製, laboratory grade, 平均分子量: 625) 水溶液中に添加した。単一微粒子内蛍光 (425~525 nm) 強度分布は、405 nm の半導体レーザーを光源とし、60 倍水浸対物レンズ (UPLSAPO 60xH), 直径 100 μm のピンホールを用いて、室温 (~25 $^{\circ}\text{C}$) で測定した¹⁵⁾。また、単一粒子の中心近傍の蛍光スペクトルは 406 nm の半導体レーザー (ネオアーク製, TC-20-4030S-2F4.5) を用いて、顕微蛍光法により測定した¹⁶⁾。

3 結果と考察

クマリン 102 を収着させた ODS シリカゲルを TX-100 水溶液に添加し、共焦点顕微鏡により単一粒子からの色素放出過程を測定した。単一粒子をマイクロキャピラリーインジェクション法で添加する際、DMF-水混合溶媒は 10^{-6}cm^3 程度添加されるが、TX-100 水溶液の液量 (~15 cm^3)

* E-mail: nakatani@chem.tsukuba.ac.jp

¹ 筑波大学数理解析系化学域: 305-8571 茨城県つくば市天王台 1-1-1

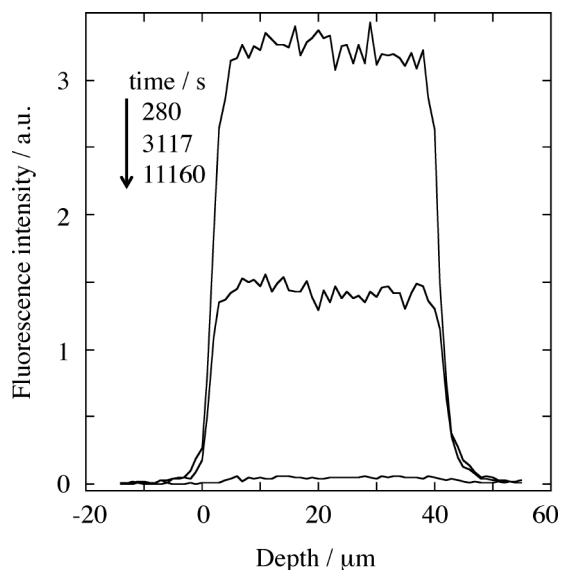


Fig. 1 Time dependence of the fluorescence depth profile of coumarin 102 in a single ODS silica gel microparticle ($d=41 \mu\text{m}$) injected into an aqueous 0.05 mmol L^{-1} TX-100 solution

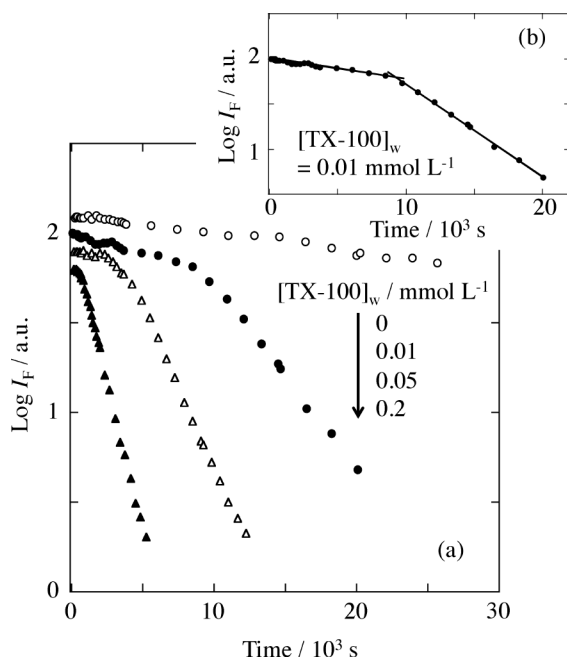


Fig. 2 Time dependence of the total fluorescence intensity (I_F) of coumarin 102 in single ODS silica gel microparticles injected into (a) aqueous TX-100 solutions of 0 ($d=49 \mu\text{m}$), 0.01 ($d=54 \mu\text{m}$), 0.05 ($d=53 \mu\text{m}$), and 0.2 mmol L^{-1} ($d=52 \mu\text{m}$), and (b) an aqueous TX-100 solution of 0.01 mmol L^{-1} ($d=54 \mu\text{m}$)

The solid line in (b) represents the linear approximation curve for data at time smaller or greater than 9000 s.

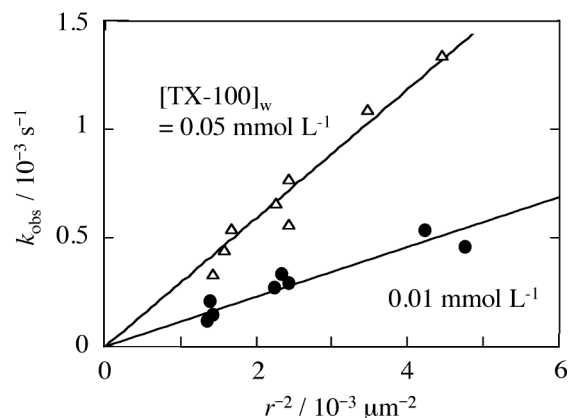


Fig. 3 Dependence of k_{obs} on r^{-2} for single microparticles injected into aqueous TX-100 solutions of 0.01 and 0.05 mmol L^{-1}

と比較して非常に少なく、水溶性の DMF は TX-100 水溶液と速やかに混合するので、色素放出に対する DMF の影響は無視できると考えられる⁶⁾¹⁴⁾。粒子の下方から上方への中心軸に沿った円 (直径 $8.3 \mu\text{m}$) 内の深さ方向の蛍光プロファイルプロットすると、蛍光強度は深さ方向に依存せずほぼ一定であり、時間とともに蛍光強度が減少した (Fig. 1)。粒子内の色素の拡散過程が放出速度の律速段階である場合、粒子内に色素の濃度勾配が生じ、粒子表面近傍での蛍光強度は内部のものより低くなると考えられる⁵⁾。今回の結果は、TX-100 が吸着した ODS シリカゲルからのクマリン 102 放出の場合と同様に、粒子内での色素拡散は非常に速いことを示している¹⁵⁾。

深さに依存した蛍光強度分布を積分することで単一粒子内の全蛍光強度 (I_F) とし、この時間依存性を調べると、Fig. 2a のような特徴的な挙動を示した。TX-100 が存在しない場合、 I_F は時間とともにゆっくりと減衰した。TX-100 が存在すると、 I_F はある時間までゆっくりと減衰 (誘導期) したのち、単一指数関数で減衰した。この誘導期を定量的に考察するため、 $\log I_F$ の誘導期とそれ以降の時間領域をそれぞれ線形近似し (Fig. 2b)、その交点の時間を τ とした。水相中の TX-100 濃度 ($[\text{TX-100}]_w$) が増加すると、 τ は減少し、誘導期以降の I_F の減衰は速くなった。

誘導期以降の I_F の時間依存性は、単一指数関数の減衰として解析し見かけの速度定数 (k_{obs}) を求めた。粒子半径 (r) と k_{obs} の関係を調べたところ、 k_{obs} は r^{-2} に正比例した (Fig. 3)。既に報告した TX-100 が吸着した ODS シリカゲルからのクマリン 102 の放出においては、 I_F の時間依存性は単一指数関数で減衰した¹⁵⁾。このとき、全時間領域から求めた k_{obs} は、粒子表面とバルク水相間の色素の拡散が律速である場合の理論式 $k_{\text{obs}} = 3D_{w,D}/(r^2 K_D)^{17)18)}$ で解析できた¹⁵⁾。ここで $D_{w,D}$ は水相中の色素の拡散係数 ($6 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$)¹⁹⁾ を、 K_D は ODS シリカゲルと水相間の色素の分配係

Table 1 Distribution coefficient of coumarin 102 (K_D) and the TX-100 concentration in ODS silica gel at the sorption equilibrium ($[TX-100]_{O,eq}$) in the ODS silica gel/water system

$[TX-100]_w / \text{mmol L}^{-1}$	$K_D / 10^4$	$[TX-100]_{O,eq} / \text{mol L}^{-1}$
0.01	1.6 ± 0.3	0.14 ± 0.01
0.05	0.62 ± 0.09	0.15 ± 0.01
0.2	0.34 ± 0.04	0.25 ± 0.03
1	0.29 ± 0.02	
2	0.25 ± 0.04	

数を表す. k_{obs} がこのような簡単な関係式となるのは, マイクロメートルサイズの微粒子の系では, 溶質の拡散は定常的な球拡散となるためである. 今の系における結果を同じ関係式で解析し K_D を求めたところ (Table 1), $[TX-100]_w = 0.01 \text{ mmol L}^{-1}$ での K_D が TX-100 が吸着した ODS シリカゲルの系から求めたもの $\{(0.8 \pm 0.2) \times 10^4\}$ よりわずかに大きくなったが, これ以上の $[TX-100]_w$ では両者の K_D は実験誤差内でよく一致した¹⁵⁾. この結果から, 誘導期以降の I_F の時間依存性は, TX-100 が ODS シリカゲルと水相間で吸着平衡となり, クマリン 102 が粒子表面から拡散律速で水相に放出される過程が観測されていると結論できる. また, 誘導期の I_F の時間依存性は, TX-100 が ODS シリカゲルに吸着する過程に起因すると予想される.

クマリン 102 は媒体の極性によって蛍光スペクトルが変化する色素であり, 媒体の極性が低いほど蛍光極大波長 (λ_{max}) は短波長側にシフトする²⁰⁾. 水, エタノール, 及び 1-オクタノール溶液中の λ_{max} を測定すると, それぞれ 490 nm, 468 nm, 及び 462 nm であった (Fig. 4a). ODS シリカゲル/水系でクマリン 102 を吸着平衡とし, 単一粒子の顕微蛍光測定を行ったところ, TX-100 が存在しないときは $\lambda_{max} = 468 \text{ nm}$ であり, エタノール溶液中の極性と同程度であることが分かった. この結果は, クマリン 102 は細孔壁の疎水的環境である ODS 相内部に分配しているのではなく, ODS/水界面に吸着しているものと考えられる. また, TX-100 とクマリン 102 が共に吸着平衡であるとき, λ_{max} は減少し $[TX-100]_w = 0.05 \text{ mmol L}^{-1}$ 及び 2 mmol L^{-1} で $\lambda_{max} = 453 \text{ nm}$ であった (Fig. 4a). クマリン 102 近傍の極性が減少した結果は, この $[TX-100]_w$ 条件では細孔壁の ODS 基への TX-100 吸着量が高く, この TX-100-ODS/水界面にクマリン 102 が吸着しているためであると予想される. $[TX-100]_w = 2 \text{ mmol L}^{-1}$ での TX-100 の吸着量は, $[TX-100]_w = 0.05 \text{ mmol L}^{-1}$ のものより高くなる (後述) が, TX-100 の吸着量が増加すると ODS 基の寄与が小さくなり, クマリン 102 は TX-100/水界面への吸着と見なすことができると考えられる. また, $[TX-100]_w$ が増加するとクマリン 102 の吸着量は増えるが, 水相の極性が減少するため水相に分配しやすくなり K_D は減少した (Table 1) もの

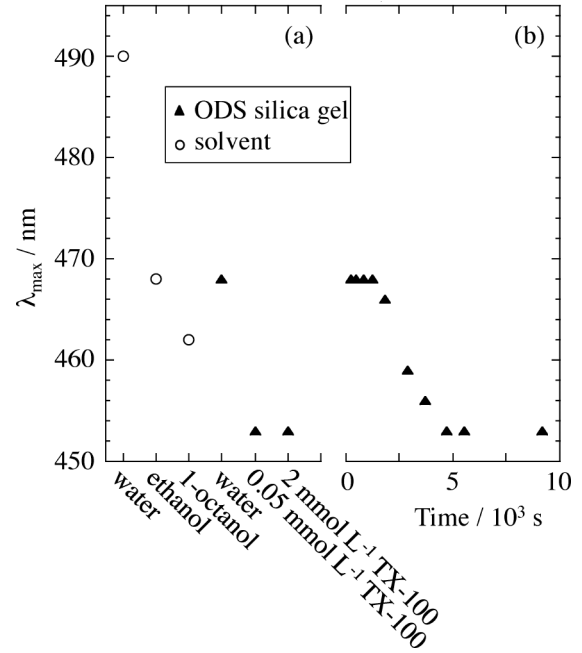


Fig. 4 Fluorescence maximum of coumarin 102 (a) in solvents and ODS silica gel at the sorption equilibrium in aqueous solutions, and (b) in a single ODS silica gel microparticle ($d = 54 \mu\text{m}$) injected into an aqueous 0.05 mmol L^{-1} TX-100 solution

と考えられる.

クマリン 102 を吸着させた ODS シリカゲルを TX-100 水溶液に添加し, 色素放出に伴う単一粒子の中心近傍の顕微蛍光スペクトルの経時変化を測定した. $[TX-100]_w = 0.05 \text{ mmol L}^{-1}$, $d = 54 \mu\text{m}$ のとき, $\sim 1000 \text{ s}$ までは $\lambda_{max} = 468 \text{ nm}$ であり, TX-100 が存在しないときの λ_{max} と一致した. これ以降の時間で λ_{max} は減少し, $\sim 5000 \text{ s}$ 以降は $\lambda_{max} = 453 \text{ nm}$ となり変化しなくなった (Fig. 4b). $\sim 5000 \text{ s}$ でクマリン 102 近傍の微視的極性は一定になったものと考えられる. $[TX-100]_w = 0.05 \text{ mmol L}^{-1}$ において, 同程度の d の I_F の時間依存性で観測される τ は $\sim 5000 \text{ s}$ でありほぼ対応した (Fig. 2). この結果から, 誘導期では TX-100 が ODS シリカゲルに取り込まれる過程が, λ_{max} と I_F の時間依存性として観測できていると考えられる. λ_{max} はクマリン 102 近傍の TX-100 の吸着を反映しているが, TX-100 の吸着量が増加すると変化しなくなるので, TX-100 の取り込み過程を解析するには τ の方が有効である.

I_F の誘導期においては TX-100 の吸着とクマリン 102 の放出が同時に起こっており, TX-100 の吸着量が増加するとクマリン 102 の放出速度が増加するため, 誘導期の I_F 曲線を解析することは困難である. そこで, 吸着平衡に達するまでの平均時間 τ を用いて TX-100 の吸着過程の解析を行った. τ は時定数であるので, この逆数は吸着過程の平均物質移動速度定数に対応する. ミセルの影響が含まれる

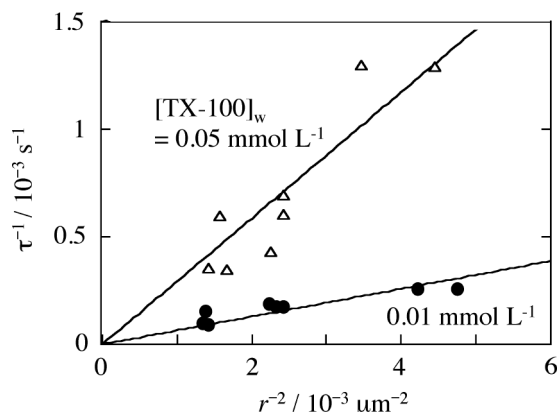


Fig. 5 Dependence of τ^{-1} on r^{-2} for single microparticles injected into aqueous TX-100 solutions of 0.01 and 0.05 mmol L⁻¹

と議論が難しく、また τ が小さくなり解析が困難であるので、TX-100 の臨界ミセル濃度 ($\text{cmc} = 0.2 \text{ mmol L}^{-1}$)²¹⁾ 以下で解析を行った。粒子がマイクロメートルサイズで、微粒子表面での TX-100 の取り込み過程が律速の場合、 τ^{-1} は球状粒子の表面積/体積比 ($4\pi r^2 / \{(4/3)\pi r^3\} = 3/r$)、すなわち r^{-1} に正比例し、バルク水相と微粒子表面間の TX-100 の拡散が律速の場合、 τ^{-1} は k_{obs} の場合と同様に r^{-2} に正比例する¹⁷⁾。今の系では、 τ^{-1} は r^{-1} よりも r^{-2} に対して正比例の関係を示した (Fig. 5) ので、 $\tau^{-1} = 3D_{\text{w,T}}[\text{TX-100}]_{\text{w,eq}} / (r^2[\text{TX-100}]_{\text{o,eq}})$ で解析を行った¹⁵⁾¹⁸⁾。ここで、 $D_{\text{w,T}}$ は水相中における TX-100 の拡散係数 ($2.8 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$)²²⁾ である。 $[\text{TX-100}]_{\text{w,eq}}$ 及び $[\text{TX-100}]_{\text{o,eq}}$ は、それぞれ収着平衡時の水相及び ODS シリカゲル中における TX-100 の濃度を表す。単一粒子のみ存在する系では、TX-100 の収着が起ころとも水相中の TX-100 の物質量はほとんど変化しないので、 $[\text{TX-100}]_{\text{w,eq}} = [\text{TX-100}]_{\text{w}}$ として $[\text{TX-100}]_{\text{o,eq}}$ を算出したところ、 $[\text{TX-100}]_{\text{w}}$ の増加とともに $[\text{TX-100}]_{\text{o,eq}}$ は増加した (Table 1)。また、ODS シリカゲル 1.00 g と TX-100 水溶液 30.0 cm³ を用いた多粒子系で測定した TX-100 の収着量から、ODS シリカゲルの細孔容積 ($1.0 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$) と細孔がない場合の固体の密度 (2.2 g cm^{-3})⁹⁾ より求めた見かけの微粒子密度 (0.69 g cm^{-3}) を用いて $[\text{TX-100}]_{\text{o,eq}}$ を求めたところ、 $[\text{TX-100}]_{\text{w,eq}} = 0.030 \text{ mmol L}^{-1}$ 及び 3.3 mmol L^{-1} でそれぞれ $[\text{TX-100}]_{\text{o,eq}} = 0.14 \text{ mol L}^{-1}$ 及び 0.30 mol L^{-1} となり、単一粒子の速度論的解析から求めた $[\text{TX-100}]_{\text{w}} = 10^{-5} \sim 10^{-4} \text{ mol L}^{-1}$ での $[\text{TX-100}]_{\text{o,eq}}$ と同程度の値となった。この結果は、今の速度論的解析は妥当であることを示しており、TX-100 の ODS シリカゲルへの取り込み過程は粒子表面とバルク水相間の TX-100 の拡散が律速であると結論できる。

蛍光プローブとして水不溶性有機化合物であるペリレンを用いると、TX-100 が cmc 以上で、ODS シリカゲルに十

分に収着した時間領域でないとペリレンの放出が観測されず、TX-100 の取り込み過程は議論できなかった¹⁴⁾。水に対する溶解度が高い蛍光プローブを用いると、ODS シリカゲル/水相間の分配係数が小さくなり、色素の放出が TX-100 の取り込みより速くなり解析できないと予想される。ODS シリカゲル/水相間の分配係数が 10^4 程度のクマリン 102 は、本手法のような速度論的解析から界面活性剤の物質移動過程を解析する上で有用なプローブであると考えられる。

4 結 言

クマリン 102 を収着させた ODS シリカゲルを TX-100 水溶液に添加し、色素放出過程の単一微粒子ごとの顕微蛍光分析により、色素及び直接測定できない界面活性剤 TX-100 の物質移動過程を分離して解析できた。粒子内の深さ方向の蛍光強度分布から、色素及び TX-100 の粒子細孔内拡散は非常に速いことが分かった。 I_{F} から色素放出に誘導期が存在し、誘導期以降の色素放出の律速は TX-100 が収着平衡に達したのち、色素が粒子表面から水相に拡散する過程であることを示した。誘導期においては、 λ_{max} の時間依存性と τ の r 及び $[\text{TX-100}]_{\text{w}}$ 依存性から TX-100 の取り込み過程が観測されており、水相から粒子表面への拡散が支配的であることを明らかにした。

謝 辞

本研究は科研費 (22550069) の援助のもと行われた。単一粒子の共焦点顕微蛍光分光測定は筑波大学研究基盤総合センター分析部門及びオープンファシリティーの共焦点蛍光顕微鏡を使用して行われた。

文 献

- 1) N. Wu, M. A. Hubbe, O. J. Rojas, S. Park : *BioResources*, **4**, 1222 (2009).
- 2) D. M. Ruthven : "Principles of Adsorption and Adsorption Processes", p. 1 (1984), (Wiley, New York).
- 3) K. Miyabe, M. Suzuki : *AIChE J.*, **41**, 548 (1995).
- 4) R. Bujalski, F. F. Cantwell : *J. Chromatogr. A*, **1048**, 173 (2004).
- 5) H.-B. Kim, M. Hayashi, K. Nakatani, N. Kitamura, K. Sasaki, J. Hotta, H. Masuhara : *Anal. Chem.*, **68**, 409 (1996).
- 6) K. Nakatani, T. Sekine : *Langmuir*, **16**, 9256 (2000).
- 7) N. Kameta, H. Minamikawa, Y. Someya, H. Yui, M. Masuda, T. Shimizu : *Chem. Eur. J.*, **16**, 4217 (2010).
- 8) A. Yamaguchi, M. M. Mekawy, Y. Chen, S. Suzuki, K. Morita, N. Teramae : *J. Phys. Chem. B*, **112**, 2024 (2008).
- 9) T. Sekine, K. Nakatani : *Chem. Lett.*, **33**, 600 (2004).
- 10) D. Grasso, K. Subramaniam, J. J. Pignatello, Y. Yang, D. Ratte : *Colloids Surf. A*, **194**, 65 (2001).
- 11) R. Sharmin, M. A. Ioannidis, R. L. Legge : *J. Contam. Hydrol.*, **82**, 145 (2006).
- 12) J. K. Strasters, E. D. Breyer, A. H. Rodgers, M. G.

- Khaledi : *J. Chromatogr.*, **511**, 17 (1990).
- 13) 岡田哲男 : 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **47**, 1069 (1998).
- 14) K. Nakatani, M. Miyanaga, Y. Kawasaki : *Anal. Sci.*, **27**, 1253 (2011).
- 15) K. Nakatani, E. Matsuta : *Anal. Sci.*, **31**, 557 (2015).
- 16) T. Negishi, K. Nakatani : *Anal. Chem.*, **77**, 1807 (2005).
- 17) K. Nakatani, T. Uchida, N. Kitamura, H. Masuhara : *J. Electroanal. Chem.*, **375**, 383 (1994).
- 18) K. Nakatani, M. Wakabayashi, K. Chikama, N. Kitamura : *J. Phys. Chem.*, **100**, 6749 (1996).
- 19) A. K. Mandal, D. K. Das, A. K. Das, S. S. Monjumdar, K. Bhattacharyya : *J. Phys. Chem. B*, **115**, 10456 (2011).
- 20) G. Jones II, W. R. Jackson, C. Choi, W. R. Bergmark : *J. Phys. Chem.*, **89**, 294 (1985).
- 21) R. J. Robson, E. A. Dennis : *J. Phys. Chem.*, **81**, 1075 (1977).
- 22) D. A. Woods, J. Petkov, C. D. Bain : *J. Phys. Chem. B*, **115**, 7341 (2011).

Fluorescence Microspectroscopic Analysis of Surfactant Transfer in the Single Octadecylsilyl Silica Gel Microparticle/Water System

Kiyoharu NAKATANI^{*1}, Emi MATSUTA¹ and Yuki KAWASAKI¹

* E-mail : nakatani@chem.tsukuba.ac.jp

¹ Division of Chemistry, Faculty of Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba, 1-1-1, Tennoudai, Tsukuba-shi, Ibaraki 305-8571

(Received October 14, 2015; Accepted December 22, 2015)

The mass transfer of 4-(1,1,3,3-tetramethylbutyl)phenyl polyethylene glycol (Triton X-100, TX-100) as a nonionic surfactant in the octadecylsilyl (ODS) silica gel/water system was investigated using coumarin 102, known as a solvatochromic dye, by the single microparticle manipulation-fluorescence microspectroscopy technique. A spherical ODS silica gel microparticle (particle radius (r) of 10–30 μm , pore diameter of 12 nm) including coumarin 102 was injected into an aqueous TX-100 solution, and the release rate of the dye from the microparticle into the aqueous phase was measured by a confocal fluorescence microscope. The intraparticle diffusion rates of the dye and TX-100 were much faster than the release rate of the dye. The release rate of the dye was discussed using the time dependence of the total fluorescence intensity (I_F). An induction period for I_F was observed in the short time region. After the induction period, I_F could be analyzed on the basis of the first-order reaction-type equation, and the rate-constant values agreed with those for the release of the dye at the sorption equilibrium of TX-100. In the induction period, the fluorescence maximum of the dye depended on time. Therefore, we consider that the sorption of TX-100 proceeds in the induction period. Because the inverse of the time of the induction period was directly proportional to r^{-2} , we conclude that the rate-determining step of the sorption rate of TX-100 is the diffusion between the bulk water phase and the spherical surface of the microparticle.

Keywords: surfactant; diffusion; sorption; ODS silica gel; microspectroscopy.