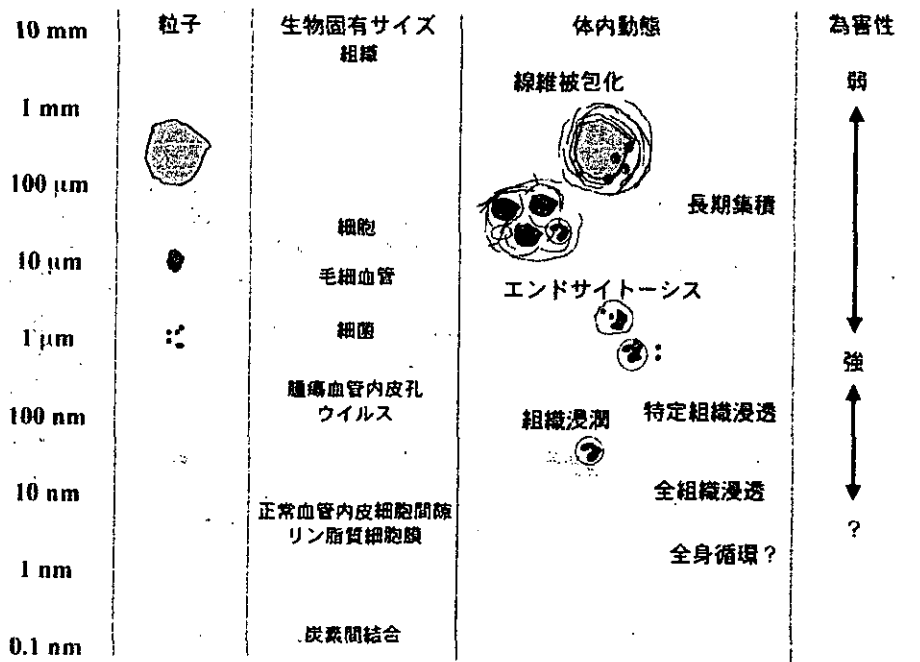
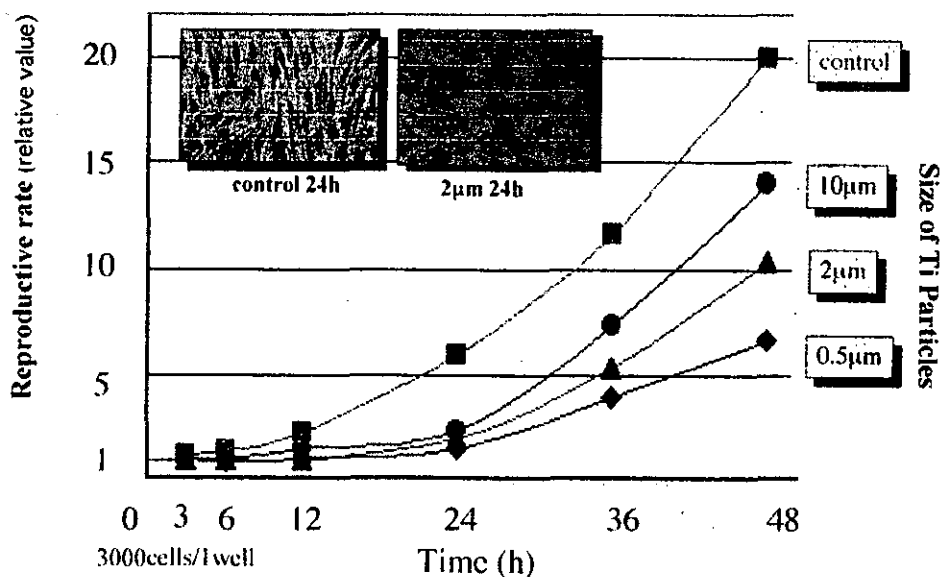


今後幅広い分野でナノ物質・材料が使われることが予想されるとき、ナノ粒子が持つ特異な機能の発見や応用研究と同時に環境や健康に与える影響についても基盤情報としてデータを蓄積、公開していく必要がある。今回は上記課題に対する私の研究の現状を報告し、今後の課題について討論したい。

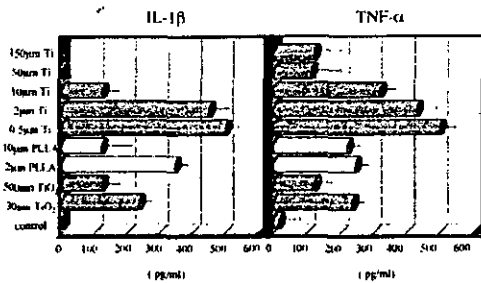
微粒子と生体反応



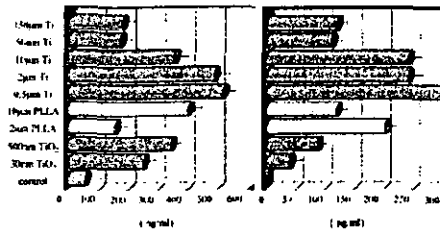
細胞増殖率の変化



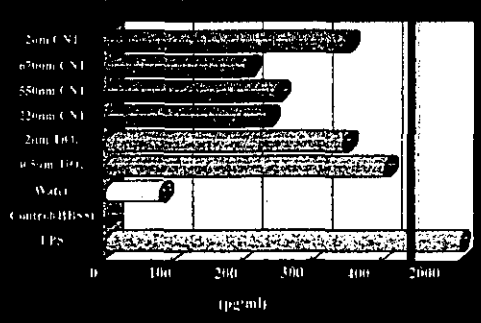
マクロファージからの
炎症性サイトカインの放出



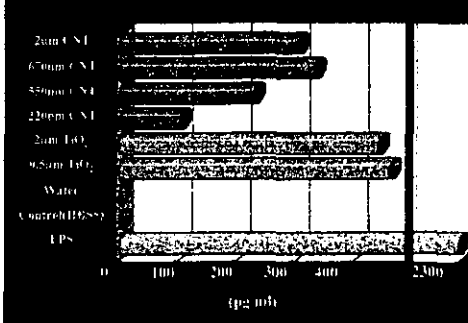
線維芽細胞からの
ケモカインと分化誘導物質の放出



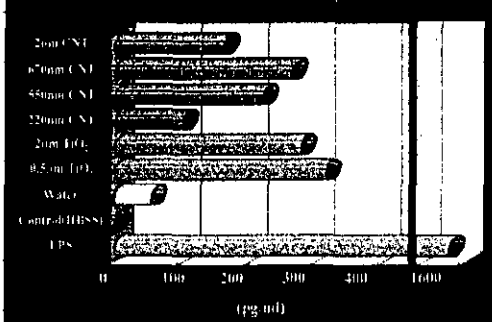
炎症性サイトカイン TNF-α 産生量



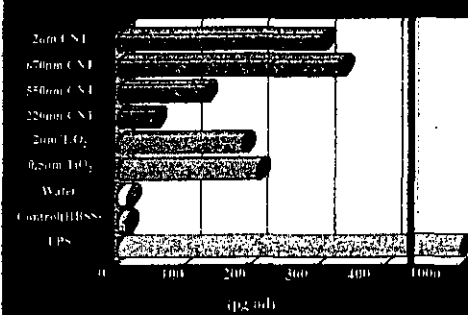
好中球走化性因子 IL-8 産生量

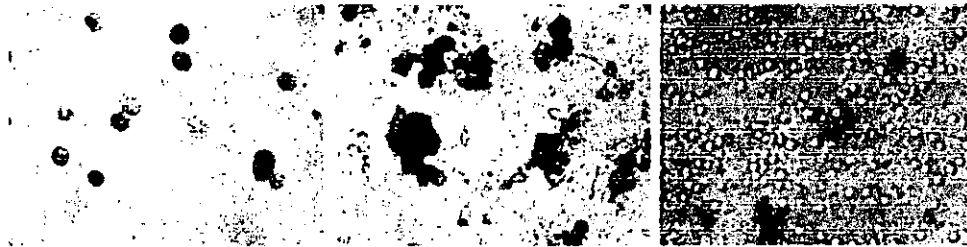


炎症性サイトカイン IL-1β 産生量



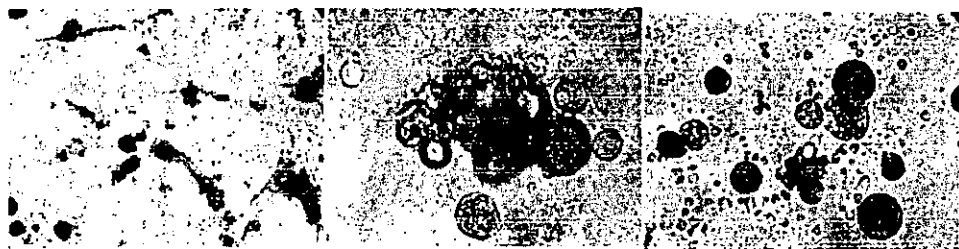
マクロファージ刺激因子 GM-CSF 産生量





CNTによるマクロファージの食食像

貪食能の低いTHP-1



歯根膜細胞に取り込まれたCNT 肺胞マクロファージの凝集 肺胞マクロファージによる貪食

現在の研究テーマ

- ① ナノ・マイクロ物質・材料に対する生体細胞の反応
- ② 磁性粒子を用いた細胞の配列
- ③ 生体組織の微粒子・コラーゲン複合体を用いた再生の基礎研究
- ④ 歯科診療時に放出される微粒子
- ⑤ 光触媒二酸化チタン微粒子の細胞への影響

カーボンナノチューブを用いた複合材料の作製と評価 およびカーボンナノカプセルの生体為害性の調査

○宇尾基弘¹・赤坂 司¹・Rosca Iosif Daniel¹・亘理文夫¹

横山敦郎²・川崎貴夫² 田村一央³・戸塚靖則³

(北大院 歯学研究科 ¹歯科理工 ²補綴一 ³口外二)

佐藤義倫・田路和幸 (東北大院 工学研究科)

大森 守 (東北大 金材研)

1. 目的

カーボンナノチューブと金属またはポリマーとの複合材を作製し、繊維強化金属/プラスチックのような高比強度の生体材料を合成することを目的とした。

またカーボンナノカプセルは希土類炭化物 (CeC₂など) の周囲をグラフェンシートで覆われた直径20~30nmの粒子である。このナノカプセルは内部に希土類を含有し、周囲をグラフェン構造で覆われるため、希土類をトレーサーとして生体内でのカーボンナノ粒子の挙動を調査するのに好適である。そこでこのナノカプセルをラットに投与し、生体内での蓄積挙動を調査した。



図1 カーボンナノカプセルのTEM像

2. 方法

【CNT含有複合材料の作製と評価】

BisGMA(bis-phenol-A di-glycidyl-methacrylate)と TEGDMA(Tryethyleneglycol-dimethacrylate)を重量比1:1に混合し、0.3wt%のカンファーキノンと0.7wt%の過酸化ベンゾイルを添加したレジンマトリクスを作製した。これに多層CNT (Nanolab社製)を0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0wt%となるよう秤量・混合し、内径1.3mmのポリエチレンチューブに充填し、可視光重合器 (モリタ: Light)により30分光照射を行って表面を重合させた後、チューブから取り出して、さらに80℃のオーブンで3時間以上加熱重合を行った。

得られた試験片は万能試験機 (インストロン: 4204)により支点間距離15mm、クロスヘッドスピード0.5mm/minの条件下で3点曲げ試験を行い、強度を評価した。

【ナノカプセルの生体内挙動の評価】

Ce含有カーボンナノカプセル (以下Ce-CNC)を混酸中で50℃×5日間処理し、同溶液を水酸化ナ

トリウム水溶液で中和後、透析を行いナノカプセル懸濁液を作製した。同懸濁液を無菌的に生理食塩水中に濃度 0.1 ~ 100ppm となるよう分散し、ラットの肺胞、腹腔マクロファージ及び THP-1 細胞に 0.01 ~ 20ppm の各濃度で投与して通法に従い 7 日培養し、TNF- α 及び IL1- β の産生量から Ce-CNC の為害性を評価した。

3. 結果

【CNT含有複合材料の特性】

図2にTi/Bis-GMA複合材の3点曲げ試験における荷重/変形量線図の例を示す。CNTの添加によって僅かに弾性率の向上が見られるが、破断時の変形量や最大荷重はいずれもCNTの添加によって低下している。

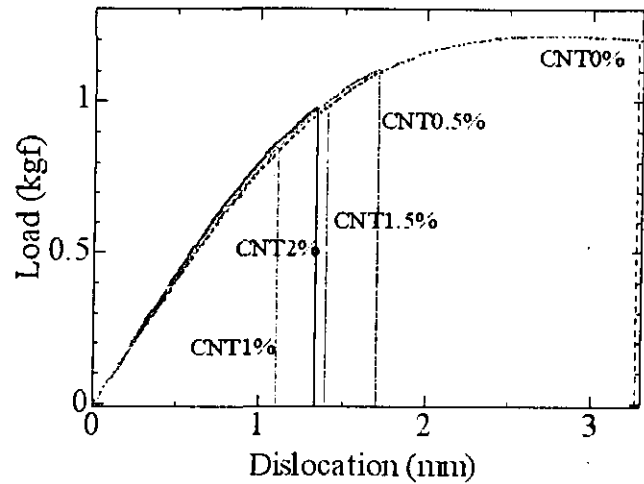


図2 CNT/Bis-GMA複合材の荷重-変形量線図の例

図3は曲げ弾性率とCNT濃度の関係を示している。CNT濃度が0.5wt%において若干の弾性率の向上が見られるが、それ以上のCNT濃度ではCNTを含まない樹脂とほとんど同程度である。従って现阶段ではCNT添加によって樹脂の曲げ強度はむしろ低下していることになる。この原因の一つとしてCNTの樹脂中への分散性の問題があり、今後超音波ホモジナイザーによる強制分散やCNTの空気酸化・硝酸処理による分散性の改良などでCNT複合樹脂の強度向上を図る予定である。

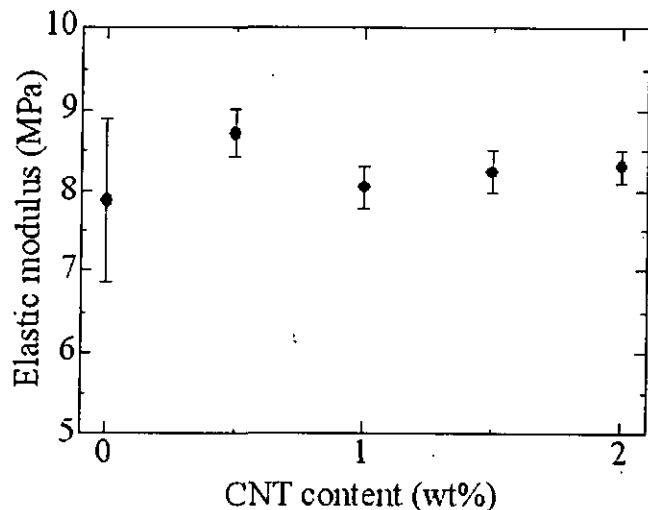


図3 CNT/Bis-GMA複合材の曲げ弾性係数のCNT濃度依存性

【ナノカプセルの生体内挙動の評価】

ラットマクロファージ及びTHP-1細胞にCe-CNCを投与した場合のTNF- α 産生量を図4に示す。

CNC濃度が1~2ppmを超えた時点からTNF産生量が増大し、細胞への刺激性が増加していると考えられる。本実験で使用したCNCは数ppm以上になると凝集が起こり目視で確認できる程度の二次粒子を形成することから高濃度域での刺激性はこの凝集体によることが考えられる。

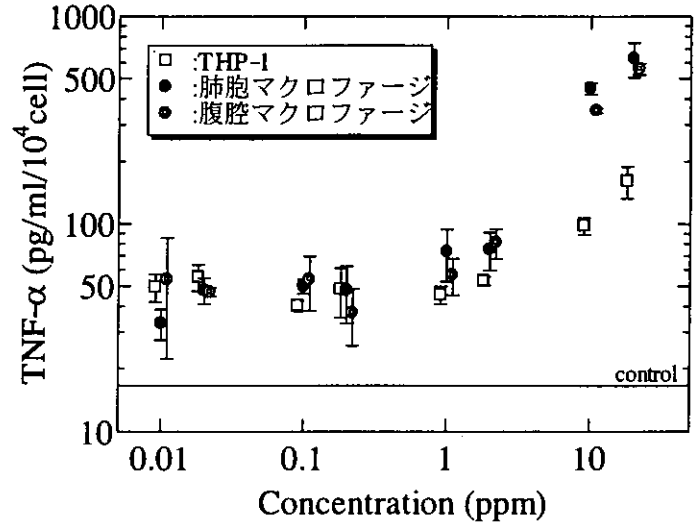


図4 TNF- α 産生量のCNC濃度依存性

図5はCNCと対照としてTiO₂を1ppmとなるよう添加した場合のTNF- α およびIL-1 β 産生量の比較である。

肺胞、腹腔マクロファージにおいてTNF- α 、IL-1 β 産生量はともにCNC添加の場合はTiO₂の場合に比べて同等かやや低くCNCの細胞刺激性がTiO₂より低いレベルであるとされる。またTHP-1細胞ではあまり変化は見られず、これは細胞自体の感受性によると思われる。

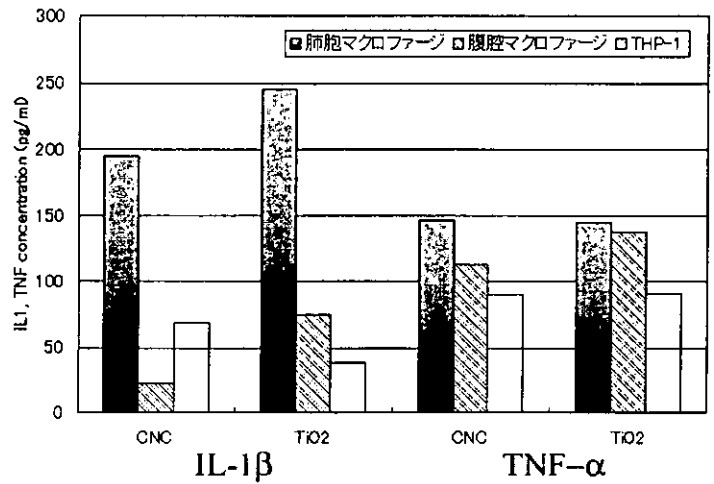


図5 CNC及びTiO₂ (1ppm)のTNF- α 、IL-1 β 産生量の比較

図6は図4で示したTNF- α 産生量 (CNC1ppm時)を過去の多様な粒子状物質における値と比較したものである。CNCにおけるTNF- α 産生はTi粒子で最も刺激性が低いもの(150 μ m)と同程度であることが分かった。

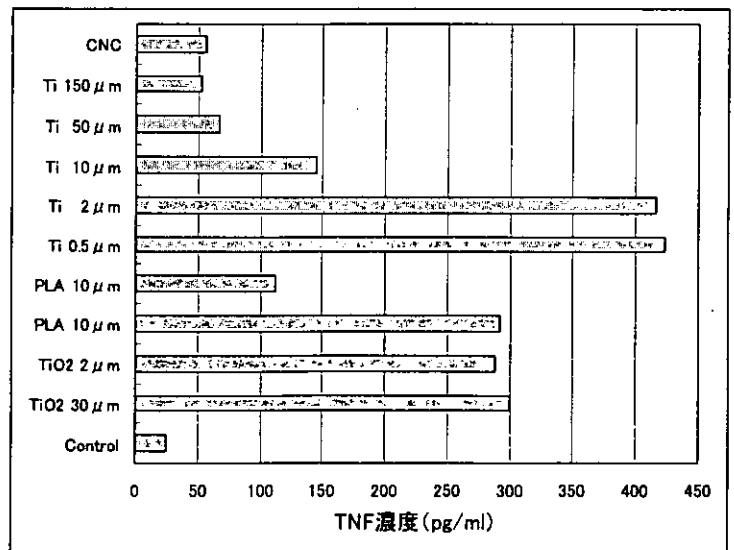


図5 CNC及び他粒子のTNF- α 産生量の比較

4. 今後の方針

1. CNT/樹脂複合体について

CNTの精製及び分散性の改善を行い、混合方法を改良することによって複合体の強度上昇を試みる。
またSPSによる樹脂とCNTの焼結による複合体作製も試みる。

2. CNCの生体為害性及び生体内挙動の調査について

現在CNCを細胞およびラットに投与して細胞内への取り込まれ方及び生体内での蓄積を調査している。
また今後CNCの光学的、電磁気的特性の測定も同時に試みる。

Microparticle formation in emulsification solvent evaporation method

Iosif Daniel ROSCA¹, Fumio WATARI², Motohiro Uo², Tsukasa AKASAKA²
and Kazuchika TAMURA²

1. Department of Polymer Science, Faculty of Industrial Chemistry, Polytechnic University of Bucharest, Calea Victoriei, 149, Sector 1, Bucharest, Romania
2. Hokkaido University, Graduate School of Dental Medicine, Kita 13, Nishi 7, Kita-ku, 060-08586, Sapporo, Hokkaido, Japan

1. Introduction

The classic emulsification solvent evaporation technique (ESE) elaborated by R. Bodmeier et al. [1], Y. Ogawa et al. [2] and different recent variations are commonly used for encapsulation of various substances from simple pharmaceutical products to proteins and DNA [3,4].

Although the technique is well defined as methodology, there are only a few studies about the encapsulation and particle formation mechanism [5]. Particle formation mechanism is crucial for size distribution, and morphology, which in turn determine the delivery system behavior during encapsulation and release.

In this study the mechanism of microparticle formation for single (O/W₂) and double (W₁/O/W₂) emulsion solvent evaporation formulations was elucidated, and its influence on the microparticle encapsulation and release behavior were assessed. Optical microscopy and laser diffractometry revealed different aspects of the microparticle formation, from the initial microdroplet to the final hard microparticle.

2. Materials and methods

2.1. Materials

For this study poly(DL-lactide-co-glycolide) one of the most widely used biodegradable polymer, was chosen. The copolymer, Lactel BP 0100 (PLGA) with lactide, glycolide ratio 50:50, and molecular weight 45000-75000 was purchased from Sigma.

Poly(vinyl alcohol), (PVA) commonly used in emulsification solvent evaporation formulations, with molecular weight 22000, and 86-88% degree of hydrolysis, was obtained from Kanto Chemicals.

Dichloromethane (DCM) one of the most extensively used formulation solvent was purchased from Wako Pure Chemicals.

All chemicals were used without further purification.

2.2. Equipments

High-speed emulsification was achieved by Heidolph DIALX 900 homogenizer using 18G tool for O/W₂, and 6G tool for W₁/O emulsion. For low speed dispersion Ika Labortechnik mixer with impeller, and baffles was used.

Nikon Optiphot 114 microscope with digital imaging capabilities was used to record the microdroplet evolution into the final microparticle.

The microparticles were sized by laser diffractometry using a Shimadzu SALD 7000 laser particle analyzer.

The morphology of the microparticles was examined by scanning electron microscopy (Hitachi S-4000) after Pd-Pt coating.

2.3. Methods

The investigated single/double emulsification solvent evaporation method follows the classical method [1-2]. For single emulsion formulation a predetermined quantity of PLGA was dissolved in 5ml DCM, forming the oil phase. 500 μ L of 1%w/v PVA solution in deionized water as inner aqueous phase (W₁) was used for the double emulsion formulation. High-speed homogenizer at 20000rpm dispersed W₁ for 2 minutes in the polymer solution, forming the W₁/O emulsion.

The oil phase or the W₁/O emulsion was then dispersed in 30mL of deionized water with different PVA concentrations. For high shear stress mixing, homogenizer at 8000-11000rpm for 2-3 minutes was used. For low shear stress formulations laboratory mixer with impeller and baffles at 500-1400rpm was used. The oil phase or the W₁/O emulsion was added by injection through 0.2mm needle in 15s.

At the end of the high-speed homogenization or after 5 minutes in the case of low-speed formulations, the size distribution of particles was measured, and one drop of emulsion was poured on a microscope slide and sealed with cover glass. The slide was mounted on the microscope and the transformation of the initial microdroplets into the final microparticles was captured by a picture sequence.

Next, the initial O/W₂ or W₁/O/W₂ emulsion was poured in 500mL of 0.1%w/v PVA solution, and the solvent was let to evaporate under magnetic stirring (500rpm) for 2 hours.

The microparticles were separated by centrifugation at 3500rpm for 5min, and washed once with 100mL of deionized water. After separation the size distribution of the final particles was measured and the particle morphology was examined by SEM.

3. Results and discussions

3.1. Single emulsion formulation (O/W₂)

Observing regions close to the cover glass edge revealed that the microdroplets shrink very fast, eliminating the solvent and transforming into the final microparticle. Near the cover glass edge DCM concentration in water is close to zero due its fast evaporation through the thin water air interface. Low DCM concentration induces intense solvent diffusion out of the microdroplets.

Figure 1 presents the initial and final images of the transformation of the initial microdroplets into the final microparticles. Far from the cover glass edge where the aqueous phase is saturated in DCM, solvent elimination from the microdroplets is restricted. Their diameter remains practically unchanged until the front of low DCM concentration reaches the droplets vicinity, when they shrink very fast (fig. 1).

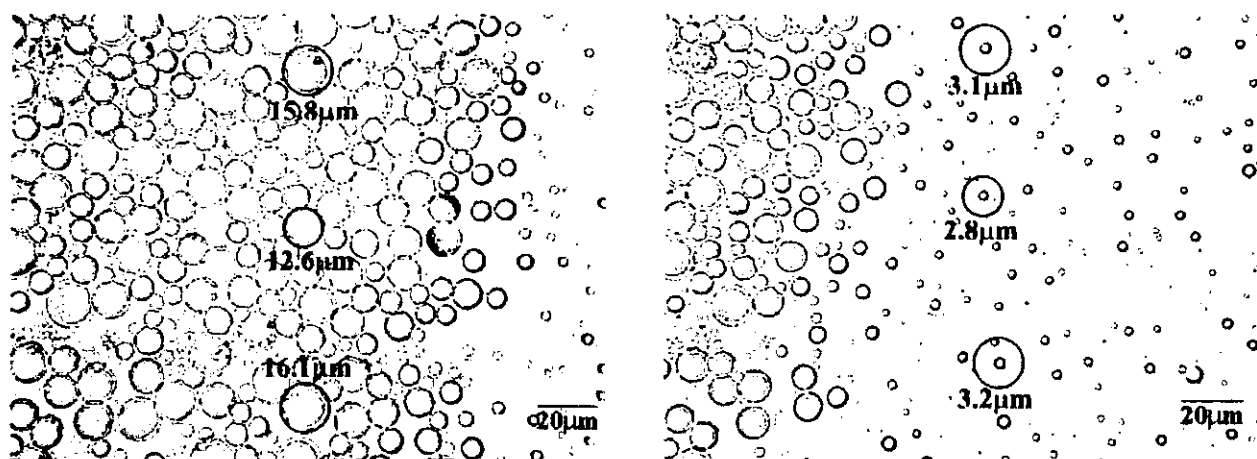


Fig. 1. The selected microdroplets transformation into the corresponding microparticles; 1%w/v PLGA; 1%w/v PVA; 8000rpm for 3 minutes.

There are two key factors promoting the fast solvent loss: high solvent volatility, and increasing tendency of PGLA to precipitate as the macromolecules become more and more exposed to water. In fact, once the particle shrinkage started, the solvent is literally expelled by the polymer precipitation.

Fig. 2 presents the particle size distributions of the initial emulsion, right after the emulsification, and that of the final emulsion after the solvent evaporation is completed. The distributions are practically superposed testifying for the fast solvent elimination. In fact, during the size distribution analysis that takes less than 30 seconds, small volume of the initial saturated emulsion (1mL) is poured in a large amount of water (250mL) inside the analyzer where DCM is well below its saturation limit, leading to fast solvent elimination.

Almost identical initial and final particle size distribution also means that the microdroplets do not coalesce nor break up after the emulsification step.

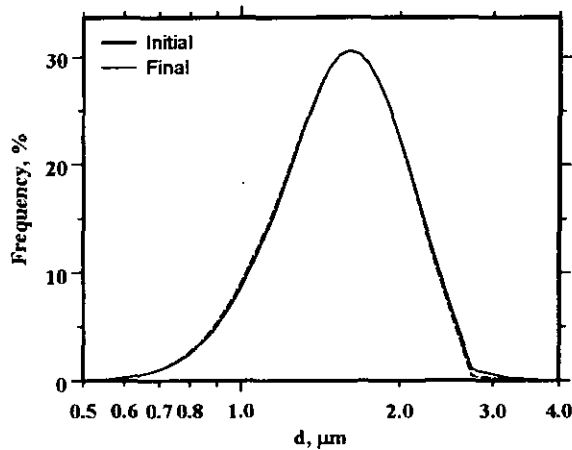


Fig. 2. Initial and final particle size distribution. PLGA 1%w/v; PVA 1%w/v; 11000rpm; 2 min

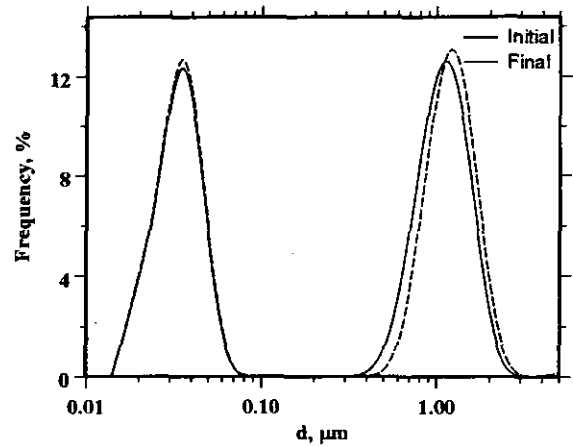


Fig. 3. Initial and final particle size distribution. 1%w/v PLGA, 5% PVA, 11000rpm, 2 min

Considering the above evidences the microparticles are formed by accelerated solvent elimination due to the combined effects of high solvent volatility and polymer precipitation.

However the rate of solvent elimination strongly depends on the initial microdroplet size. As the initial microdroplet diameter increases the available surface for solvent elimination decreases leading to slower solvent elimination.

3.1.1. Microparticle surface morphology

With a few exemptions, when the microparticle surface was found slightly rough [6,7] literature screening evidenced that microparticles are spherical and have smooth surface. Our low magnification SEM micrographs showed the same spherical microparticles with smooth surface (fig. 4).

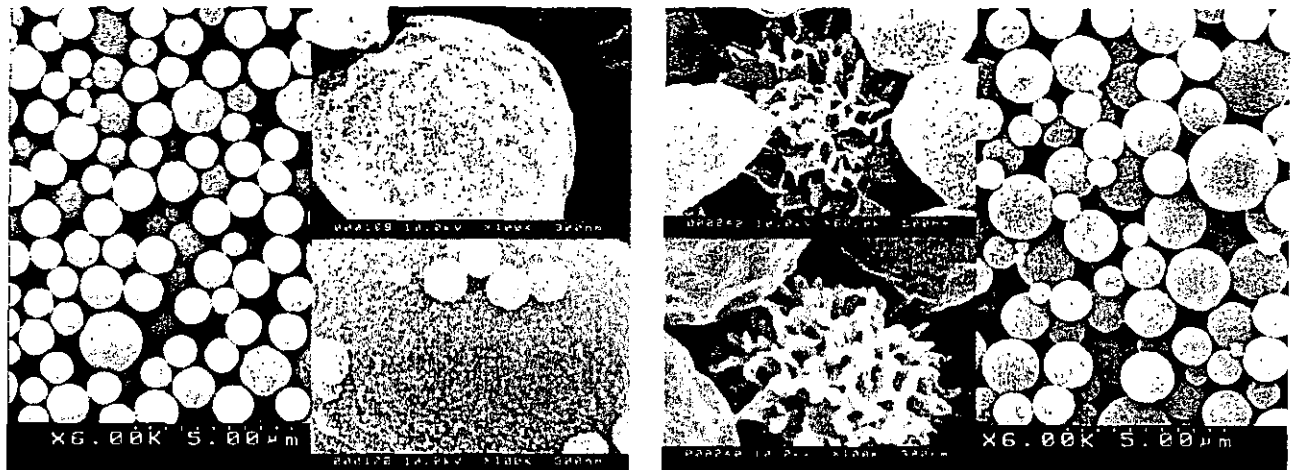


Fig. 4. SEM micrographs of PLGA microparticles

High magnification SEM micrographs revealed that a thin layer of nanoparticles cover the microparticles surface (fig. 4). For some of the formulation conditions laser diffractometry also evidenced the nanoparticles on the microparticle surface by the presence of a secondary peak around 30nm (fig. 3). If the nanoparticles were free, than after the low speed centrifugation (3500rpm) they should been eliminated, but the secondary peak was still present after the centrifugation, proving that the nanoparticles are in fact stuck on the microparticles surface.

3.1.2. Encapsulation and release behavior

The encapsulation efficiency is clearly affected by the fast shrinkage because the encapsulated substance is drained during the solvent elimination. At the microdroplet surface, during solvent elimination, not only the polymer tends to precipitate but also the encapsulated substance. In this way the generated nanoparticle layer become enriched with the encapsulated substance, and it reasonable to believe that this enriched thin layer is responsible for the initial burst release.

3.2. Double emulsion formulation ($W_1/O/W_2$)

3.2.1. Particle morphology

The solvent elimination process in the presence of the inner aqueous phase produces important particle morphology changes. During shrinkage the inner droplets coalesce under the pressure of the precipitating polymer (fig. 5, I-IV). Since the inner phase is incompressible, the polymer wall around the aqueous droplets breaks, forming holes through which the inner aqueous phase is partially expelled.

Optical and scanning electron microscopic observations evidenced that the final emulsion was a mixture of microparticles with honeycomb, capsule and plain structures.

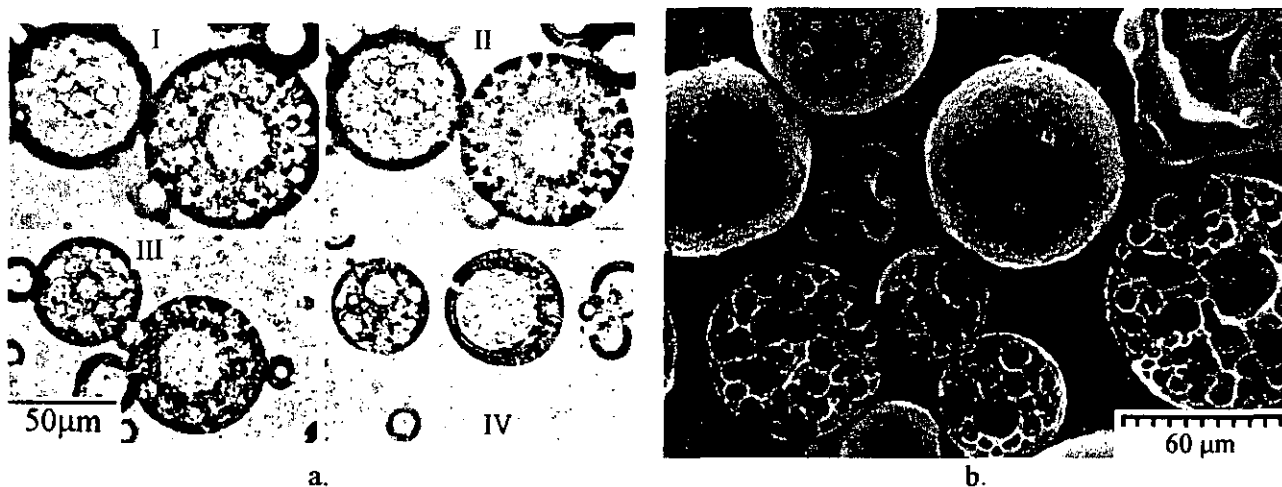


Fig 5 Picture sequence of the initial $W_1/O/W_2$ droplet transformation (a); SEM micrograph of the particle morphology (b). 10%w/vPLGA, 1%w/vPVA, 500rpm

3.2.2. Encapsulation and release behavior

The encapsulation efficiency is directly related to the extent of W_1 phase entrapment. Depending on the formulation conditions the inner aqueous phase is partly lost during the solvent elimination process. Furthermore, during the solvent evaporation, the remaining active-principle is continuously partitioning with the external aqueous phase through the surface holes.

The holes present on the pore or capsule wall will decisively contribute to the initial burst release. For smaller particles ($\sim 10\mu\text{m}$) obtained at high stirring rate the burst release is more important because the broken capsule structure is predominant in this case.

4. Conclusions

In the present study microparticle formation and encapsulation mechanism for single and double emulsification solvent evaporation method was elucidated. The initial O/W_2 , and $W_1/O/W_2$ emulsion microdroplet transformation into the final hard microparticle was pursued by optical microscope and laser diffractometry.

The microparticles are formed by accelerated solvent elimination due to the combined effects of high solvent volatility and polymer precipitation. The fast shrinkage that accompanies the solvent elimination has important influence on the particle morphology.

During the fast solvent elimination and shrinkage the encapsulated substance is partly drained.

Scanning electron microscopy and laser diffractometry evidenced the presence of a thin nanoparticulate layer on the microparticles surface. This layer is formed during the solvent elimination by the shrinkage-induced fragmentation of the precipitating polymer crust. It is reasonable to believe that the encapsulated substance will accumulate in this layer contributing to the initial burst release.

The inner aqueous phase (W_1) in the double emulsion formulations has important influence on the mechanism of particle formation. In this case microparticles with different structures are generated.

During solvent elimination the droplets of inner aqueous phase coalesce under the precipitating polymer pressure. Due to the incompressibility of the W_1 phase, the polymer wall often breaks resulting in holes through which the inner aqueous phase is partly expelled. Furthermore, after particle hardening the holes will contribute to the encapsulated substances leakage through partitioning with the external aqueous phase, and to the initial burst release.

5. Acknowledgements

This work was supported by the Japan Society for the Promotion of Science.

6. References

- [1] R. Bodmeier, R.W. McGinity, 1987, The preparation and evaluation of drug-containing poly(DL-lactide) microspheres formed by the solvent evaporation method. *Pharm. Res.*, 4, 465-471.
- [2] Y. Ogawa, M. Yamamoto, H. Okada, T. Yashiki, T. Shimamoto, 1988, A new technique to efficiently entrap leuprolide acetate into microcapsules of polylactic acid or copoly(lactic/glycolic) acid. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 36, 1095-1103.
- [3] M.J. Alonso, Nanoparticulate Drug Carrier Technology, in S. Cohen, H. Bernstein (Eds.), *Microparticulate Systems for the Delivery of Proteins and Vaccines*, Marcel Dekker, 1996, pp 203-225.
- [4] K.S. Soppimath, T.M. Aminabhavi, A.R. Kulkarni, W.E. Rudzinski, Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices, *J. Control. Rel.* 70 (2001) 1-20.
- [5] H. Rafati, A.G.A. Coombes, J. Adler, J. Holland, S.S. Davis, Protein-loaded poly(DL-lactide-co-glycolide) microparticles for oral administration: formulation, structural and release characteristics *J. Contr. Rel.* 43 (1997) 89-102
- [6] D.T. Birnbaum, J.D. Kosmala, D.B. Henthorn, L. Brannon-Peppas, Controlled release of b-estradiol from PLGA microparticles: The effect of organic phase solvent on encapsulation and Release, *J. Contr. Rel.*, 65 (2000) 375-387
- [7] Y.Y. Huang, T.W. Chung, Microencapsulation of gentamicin in biodegradable PLA and/or PLA/PEG copolymer, *J. Microencapsulation*, 2001, 18(4), 457-465.

ナノクラスターキャラクタリゼーション手法の開発

北海道大学触媒化学研究センター
朝倉清高・田旺帝・鈴木秀士・新美大伸

1. 序

ナノ領域の大きさをもつ粒子の形状や化学組成を観測することは、そこで起こる様々な化学過程を解明する上で、重要な知見となる。空間分解能を有する手法として、電子を用いた方法があるが、試料損傷が大きい場合がある。われわれは、X線を利用した新しい化学分析表面顕微鏡を開発している。ここでは、X線により放出された光電子の運動エネルギーを分析してマッピングする EXPEEM 法および波長可変の X 線を照射しながら、表面のマッピングを行う手法について、述べたい。

2. EXPEEM

PEEM (Photoemission electron microscopy) は、表面に紫外光を照射し、放出される光電子を用いて拡大投影して、表面の顕微鏡像をリアルタイムで得る手法である。Ertl, Rotermund, Engel らは、PEEM を使い、CO 酸化反応に伴って Pt 単結晶上に発生する吸着種濃度の時空間パターンをリアルタイムで観察した。10-100 nm の空間分解能とビデオレートの時間分解能(数 10 ms)および 10^{-4} mbar 台のガス共存下での化学反応追跡が可能な点に特徴をもち、拡散と反応が複雑に入り組んだ表面現象を画像化することで表面研究の新しい切り口を与えた。しかし、PEEM は、化学反応中の表面を観測する有力な手法であるが、その表面像コントラストは、表面の仕事関数の違いでつけられている。このため、複雑な組成をもつ表面の元素分布や化学状態分布を得ることは難しい。一方、X 線を用いて、内殻の光電子を励起すれば、内殻電子の束縛エネルギーが元素固有であり、化学状態によりシフトするので、PEEM と組み合わせることで化学状態の表面マッピングが可能となる。X 線のエネルギーを固定できることから、一つのビームラインに装置を固定して、いろいろな元素を幅広く測定できる利点を持つだけでなく、特性 X 線源を利用した in-lab 装置への発展可能性をもつ。また、内殻光電子を高分解能で測定することで、色収差を減少させ、弾性散乱ピークを観測することから、表面感性を上げることができる。しかし、感度が低いため、世界的には、半球型電子分光器と PEEM 光学系を組み合わせた方式が、100 eV 以下の光エネルギー領域で実現しているにすぎない。しかし、100 eV 以下の場合、光電子ピークが重なる可能性があり、スペクトルが複雑になることがある。化学分析が可能な内殻光電子を励起できる高エネルギーの X 線をもちいることが望まれる。しかし、X 線のエネルギーが増加するにつれ、光電子の吸収断面積が小さくなるとともに、2次電子のバックグラウンドが大きくなるため、測定が困難になる。われわれは、1000-3000 eV の軟 X 線を用いてエネルギー選別型光電子顕微鏡による表面元素選別像の観測を試みた。光軸を直線に配置できることから、Wien filter 型光電子分光器を採用した。

図 1 に EXPEEM 像を示す。Ta 基板に $50\ \mu\text{m}$ 周期で $10\ \mu\text{m}$ 四方の領域に Au を蒸着したものをサンプルとした。2300 eV という高エネルギーの X 線を照射して、Au の 3d および Ta 3d の光電子を選別した。その結果、図 1 に示すように Au 3d を用いて結像すると、Au が明るく観測され、Ta 3d を結像すると、Ta が明るく見える。すなわち、異なる運動エネルギーを選別することで、元素ごとにコントラストを得ることができ、軟 X 線領域において、元素選別 PEEM (EXPEEM)

を実現した。

3. X線 SPM

走査探針顕微鏡法(Scanning Probe Microscopy: SPM)は、先端をとがらせた針先を表面に近づけ、その表面をなぞることで、表面の凹凸を得る手法である。STM や NC-AFM がその代表である。STM では、針先からサンプルに流れるトンネルカレントを測定し、また NC-AFM は針先とサンプルの間の原子間力を測定して、表面の凹凸をはかる。しかしながら、表面の化学分析をすることは難しい。われわれは、NC-AFM 法により表面の元素マッピングを実現するため、元素固有の吸収端付近のエネルギーをもつ X 線により、針先とサンプルの間の原子間力が変化させられないか検討した。図 2 に示すように、Si 上に Au を蒸着し、Au の吸収端付近で X 線のエネルギーを掃引したところ、Au の吸収端付近で原子間力が変化し、明瞭なピークを与えた。これを利用することにより、NC-AFM 像から表面の元素分析をすることが可能となることが期待される。

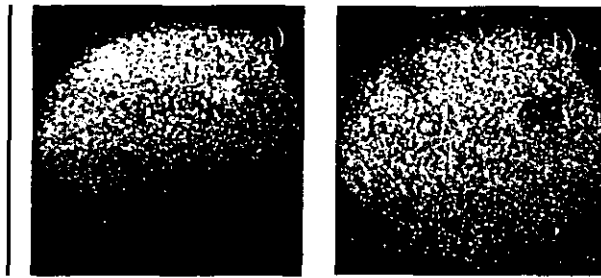


図 1 EXPEEM 像 (a) Au3d の光電子を用いて結像したもの (b) Ta3d を用いて結像したものである。

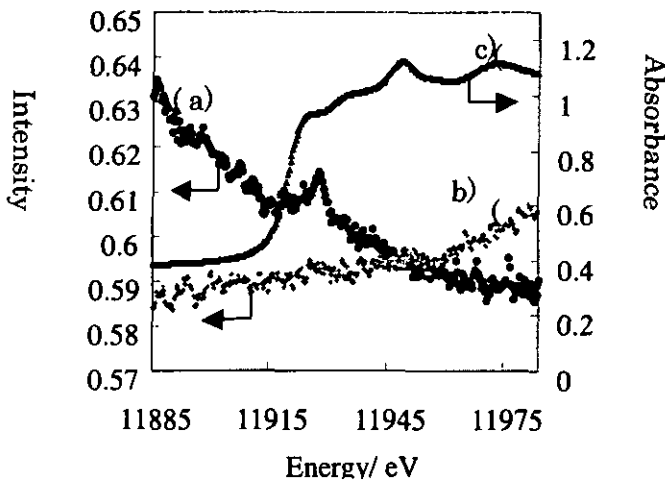


図 2 X線のエネルギーと原子間力の関係 (a) 金の領域上に探針をおき、測定した場合 (b) Si が基板上に探針がある場合

カーボンナノチューブの機能化とバイオへの応用 ～ 単層カーボンナノチューブの柔軟性を探る ～

北海道大学大学院歯学研究科

○佐々木絃子、青木尚史、横山敦郎、川崎 貴生

赤坂 司、宇尾基弘、亘理文夫

東北大学大学院工学研究科

佐藤義倫、田路和幸

1. 研究目的

グラファイト、フラーレン、カーボンファイバー、多層カーボンナノチューブ、単層カーボンナノチューブ等、カーボン材料は様々の種類が存在し、それぞれ形態学的・光学的、機械的・電気的特徴を持っている。カーボンナノチューブの特徴をうまく利用することはバイオ応用を考えるうえで重要である。今回、我々は単層カーボンナノチューブ (SWCNT) の形態学的特徴のひとつと考えられる柔軟性に着目し、Microsphereと混合することによりSWCNTの柔軟性を探ることとした。

2. 研究方法

【材料】

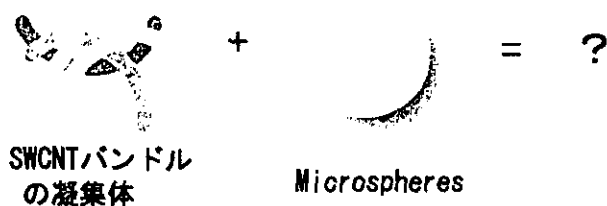
- ・ SWCNT (田路研製、番号403HSW、高純度精製品)
 - ・ Streptavidin Coated Fluoresbrite YG Carboxylated Microspheres, 1.0 μm (Polysciences, Inc.)
- *Microsphereは使用前に脱イオン水にて十分洗浄後、脱イオン水へ分散し使用した。

【実験操作】

SWCNT (2mg/40mL H₂O) を適度に分散させるため3分間超音波処理し、500 μL を分取した。すぐにMicrosphere分散水溶液 (9.2×10^{11} 個/1mLH₂O)へ加え、ピペッティング操作にて数回攪拌した。その後、任意時間静置し、SWCNTとMicrosphereを相互作用させた。混合14日後の光学顕微鏡観察のためには混合液の一部をスライドガラス上へ分取し、水溶液中での混合状態を観察した。混合15分後の走査型電子顕微鏡 (SEM) 観察のためには、混合液200 μl をポリカーボネート製膜 (孔径0.2 μm 、直径25mm) 上へ吸引ろ過し、カーボンコーティング後、混合状態を観察した。

3. 結果と考察

SWCNTの柔軟性を探るため、形状が単純であるMicrosphere (直径1 μm 球) とSWCNTを混合し、接触した場合のSWCNTの形状変化を観察することとした。



水溶液中での混合状態を観察するため、混合14日後の試料を水溶液のまま光学顕微鏡にて観察した (Fig. 1)。光学顕微鏡ではSWCNTの一本一本チューブ形状は観察するはできないがSWCNTバンドルの凝集体は黒い固まりとして、Microsphereは小さな丸として観察

された。SWCNT凝集体から離れた位置に存在するMicrosphereは水流により運動性を見せたのに対し、SWCNT凝集体の付近ではMicrosphereの存在数も多く静止していた。よって、SWCNT凝集体付近のMicrosphereは、水溶液中でSWCNT凝集体に吸着していると考えられる。

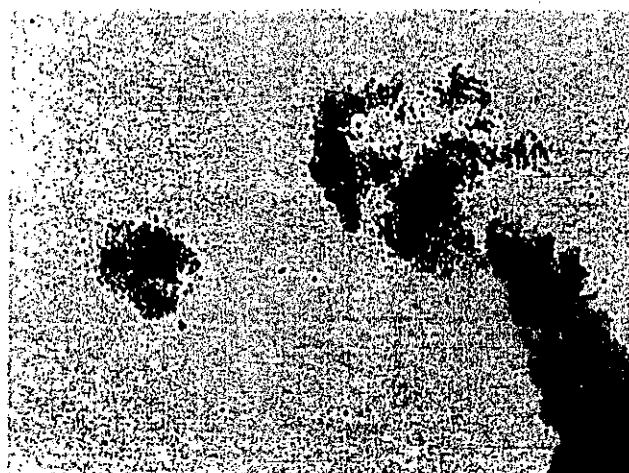


Fig. 1 混合14日後の光学顕微鏡像 (水溶液中) 小さな丸はMicrosphere、黒い固まりはSWCNTバンドルの凝集体。SWCNT凝集体へMicrosphereが吸着している。

次に、SWCNT凝集体とMicrosphereの吸着状態をより詳しく観察するため、混合15分後の試料をろ過膜上へ吸引ろ過により固定しSEM観察を行った。SEM像では、Microsphereは灰色の球として観察され、SWCNTは直径約100nmバンドルの凝集体として観察された。

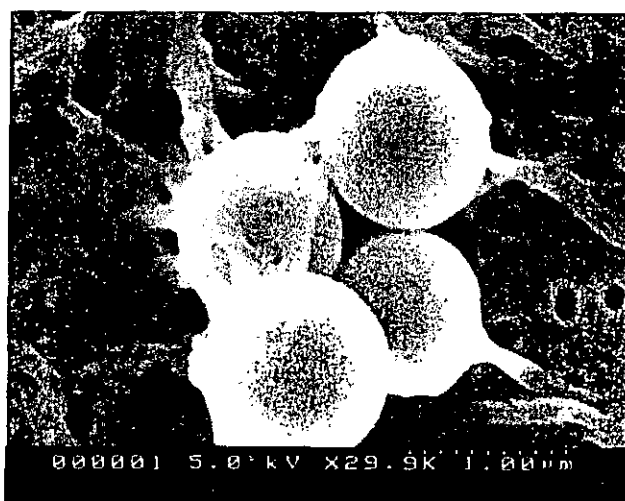
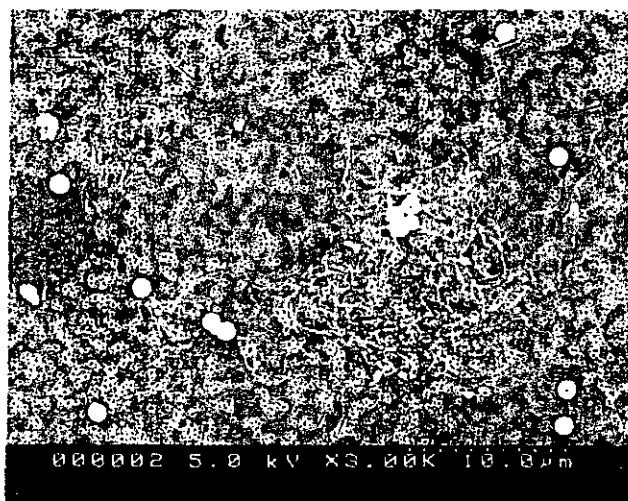


Fig. 2 混合15分後のSEM像 (Microsphereは灰色の球、SWCNTはバンドルの凝集体)

SWCNTバンドルの凝集体は平面的な形状を持つろ過膜上では平面の形状に合わせて存在している

様子が観察されるが、Microsphereと接している部分ではMicrosphereの表面形状に沿って彎曲していた (Fig. 2)。また、特にSWCNT凝集体が大きくMicrosphereへ全体的に覆いかぶさっている様に見える部分でも、Microsphereの表面形状に沿って彎曲している様子が観察された (Fig. 3)。これら
のことより、SWCNTバンドル、またはその凝集体は比較的柔軟性が高いことが明らかとなった。

SEM観察だけからではこれら同士が吸着しているか判断しにくい、水溶液中の光学顕微鏡観察でSWCNT凝集体へMicrosphereが吸着していること、Microsphere側面部分へもSWCNTが接して彎曲していること、SWCNT凝集体付近にMicrosphereの存在数が多いことなどからSWCNT凝集体へMicrosphereが吸着していると考えられる。

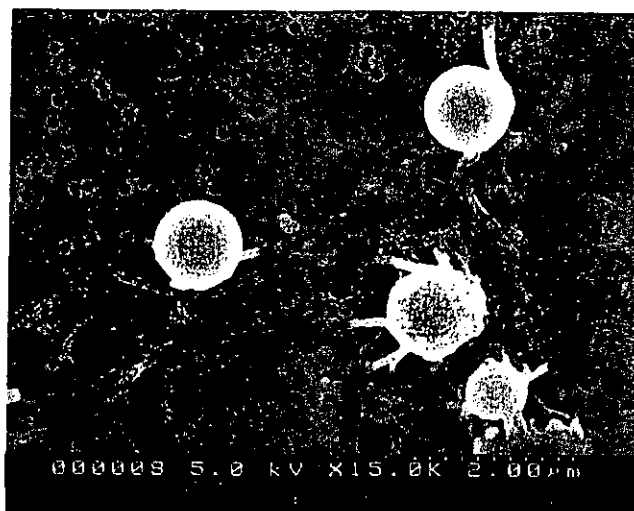
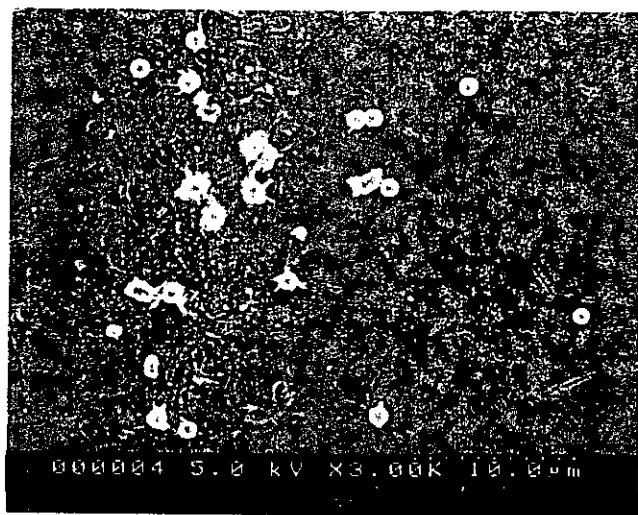
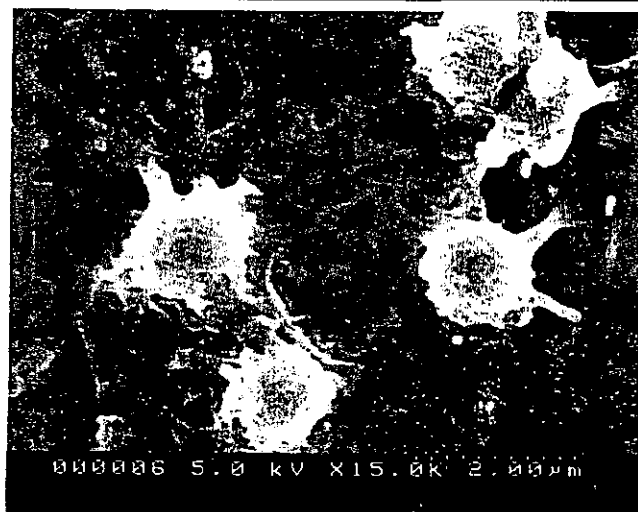


Fig. 3 混合15分後のSEM像 (Microsphereは灰色の球、SWCNTはバンドルの凝集体)

SWCNT凝集体付近にMicrosphereの存在数が多いことやSWCNTバンドルの凝集体でもMicrosphereの形状に沿って彎曲している様子が分かる。



4. 結論

SWCNTバンドルまたはその凝集体は、比較的柔軟性が高く、Microsphereの表面形状に沿って彎曲することが分かった。今後、混合条件や細胞・微生物・ウイルス等への応用を検討していく予定である。

多層カーボンナノチューブの固化とハイドロキシアパタイト被覆

東北大・金研、東北大大学院・工
大森守、大久保昭、小野木伯薫、橋田俊之、田路和幸

1. はじめに

これまでに、骨に類似した密度、ヤング率、強度を持った材料は開発されていなかった。この最大の理由は構造材料に使える金属あるいはセラミックス素材の密度が大きく、且つヤング率も大きいために、必然的にこれらが大きくなってしまいうためである。

カーボンナノチューブは、炭素という軽い元素からなり、さらにチューブ構造のために、それを固めた材料の密度は小さくなる。正確なカーボンナノチューブの嵩密度は分からないが、チューブ構造のため 2g/cm^3 以下と考えられる。カーボンナノチューブ1本のヤング率は大きい[1]、固めると空隙が多くなるためにヤング率は小さくなるはずである。カーボンナノチューブの引っ張り強度は数十 GPa とも言われて非常に大きく、この特徴を発揮させることができれば、大きい強度の材料とすることが可能である。

カーボンナノチューブを固めた報告例はなく、どのような方法が最適化であるかは不明である。固める方法によって強度に大きな差が出るのが考えられる。一般的な黒鉛製品は、 3000°C まで温度を上げて作られている[2]。単層カーボンナノチューブ(SWNT)の耐熱性は多層カーボンナノチューブ(MWNT)に比べて劣り、 2500°C までには多層カーボンナノチューブに転移すると報告されている[3]。多層カーボンナノチューブも 3000°C では分解するので、この方法を採用することはできない。特徴を引き出して強い材料にするための固化の方法を見つけることは重要である。補電プラズマシステム(SPS)では電場や放電プラズマの効果があり、難焼結性の粉体でも焼結できる例のあることが報告されている[4]。この方法を利用してカーボンナノチューブを固化する試みを行った。購入した多層カーボンナノチューブには約20%の非晶質炭素が混入しているが、SPS によって固化することは出来なかった。多層カーボンナノチューブの固化促進のために色々の添加剤が考えられるが、ここでは、フェノール樹脂を添加ししれから生成する非晶質炭素を利用することとした。

固化カーボンナノチューブの生体活性は良くないので、これを改善するためにハイドロキシアパタイトの被覆を試みた。ハイドロキシアパタイトは真空中では 1000°C 以上で、大気圧中では 1200°C 近傍から分解が始まる[5]。ハイドロキシアパタイトの被覆を商業的に行うためにプラズマ溶射法が採用されているが、得られた膜は分解生成物となる[6]。また実験的に行われているイオンビームスパッタ法では非晶質の膜となり、それを結晶化するための加熱によって基盤との熱膨張の差によりクラックが発生する[7]。このようにハイドロキシアパタイトの被覆にはまだ成功していない。本研究では、水熱合成法で使われている6モルの $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ と4モルの $\text{Ca}(\text{OH})_2$ との混合原料を使い[8]、その懸濁液を固化カーボンナノチューブに塗布し、SPSによって反応しハイドロキシアパタイト膜とすることを

試みた。

2. 実験方法

2.1. 多層カーボンナノチューブの固化

多層カーボンナノチューブの原料はアメリカのナノラボ社で作られた。この多層カーボンナノチューブの純度は約 80%であり、残りは非晶質炭素である。この原料の固化には住友石炭鉱業製の放電プラズマシステム (SPS1050) を用いた。多層カーボンナノチューブのみを SPS を用いて固化した。さらに、フェノール樹脂をアルコールに溶解し、そこへ多層カーボンナノチューブを加えた。これをよく攪拌し混合してから、アルコールを蒸発させた後 150–200°C の温度でフェノール樹脂を分解して粉末とし、これを 120MPa の加圧のもとで、1000°C から 1600°C の温度範囲で固化した。固化の時間は5分間である。固化の雰囲気はすべて真空とした。

固化カーボンナノチューブの構造を解析するためにX線回折 (理学電機、RU-200B)、透過電子顕微鏡 (日本電子、JT-007)、光学顕微鏡 (ニコン、N-01) および走査型電子顕微鏡 (日立、S-800) で測定と観察とを行った。密度はアルキメデス法で調べた。弾性定数は、20mmφ で厚さ 3mm の試料を使い、超音波伝搬の時間の測定によって求めた。

2.2. カーボンナノチューブ固化体へのハイドロキシアパタイトの被覆

6モルの $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ と4モルの $\text{Ca}(\text{OH})_2$ とを混合した原料を、グリコール酸と一緒に水に入れて懸濁液を作った。この懸濁液に固化カーボンナノチューブを漬け表面に膜を作り、これを黒鉛性の型に炭素粉と一緒に入れ、雰囲気を真空にして120MPaの加圧下で、1000°Cまで温度を上げ、その温度に5分間保持して被覆を完了した。

3. 結果および考察

3.1. 多層カーボンナノチューブの固化

原料の多層カーボンナノチューブは、直径が 20nm–40nm で構成されているが、直径 200nm の太いチューブも少し存在している。この多層カーボンナノチューブを SPS 用いて 120MPa の圧力を加え、1000°C の温度にしても固化できなかった。黒鉛もこの条件では固化されないため、SPS による固化に対する両者の挙動は類似している。約 20% 含まれている非晶質炭素の存在は固化を促進しなかった。固化を促進する目的でフェノール樹脂を添加した。このフェノール樹脂を加熱したときの炭素残留量は約 20% である。30% のフェノール樹脂を添加して得られた固化体には大き



図 1 1400°C 固化試料の TEM 写真

なポアが存在し、十分に緻密化が進行していないことが分かった。50%添加ではポアは無くなりフェノール樹脂の添加量としては適切である。1400°C で固化した試料の透過電子顕微鏡 (TEM) 写真を図1に示す。SPS 法では加圧しているため、カーボンナノチューブは加圧方向に垂直に配列している。この写真のカーボンナノチューブの直径は 100-200 μm と出発原料のそれよりは太くなっている。電子顕微鏡観察用の試料を作るとき、アルゴンガスプラズマで薄片にしているため、プラズマによって直径が大きく成長したためである。

構造を調べるために X 線回折を測定し、それを図2に示した。この図に黒鉛の回折ピーク位置を丸印で示した。原料の多層カーボンナノチューブの回折図は黒鉛のそれとほとんど同じである。1000°C での固化体の回折図はまだ原料と同じであるが、1200°C と温度を高くすると黒鉛の(101)ピークが他に比べて大きくなり、1400°C ではさらにそれが著しくなっている。この 1400°C で得られた固化体には黒鉛にはない回折ピークが現れ、1600°C での固化でそれがさらに明瞭になっている。新しいピークはこれまでの報告されている黒鉛の結晶のそれと一致せず、新しい炭素の結晶ができてい

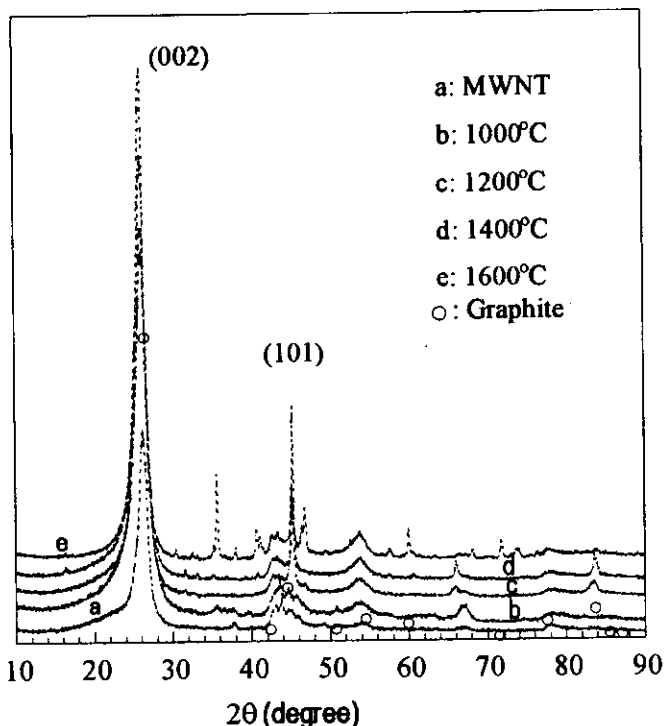


図2 固化した試料、MWNT、黒鉛のX線回折図

可能性がある。
表1には 1000°C、1200°C、1400°C の各温度で得られた固化体の嵩密度、弾性定数、開孔率を示す。嵩密度は 1000°C の固化ではその他のものより低く固化

表1 固化した MWNTの密度と弾性定数

固化温度 (°C)	嵩密度 (g/cm ³)	開孔率 (%)	閉孔率 (%)	ヤング率 (GPa)	ポアソン比
1000	1.67	16.7	9.6	3.05	-0.62
1200	1.74	16.8	6.4	11.1	0.074
1400	1.73	15.6	8.1	10.1	0.034

が十分に行われていない。1200°C での固化では嵩密度 1.74g/cm³ と一番大きくなっている。骨の嵩密度は 1.6~2.1g/cm³ であり[9]、固化体の嵩密度は骨とほぼ同じである。多層カーボンナノチューブはチューブ構造のために黒鉛の理論密度 2.266g/cm³ より小さいはずであり、正確な値に関する報告はないので相対密度を計算できないが、光学顕微鏡の写真から推定すると 90%以上の緻密体になっていると思われる。開孔率はどの固化体での 16%でほぼ同じであり、これはチューブ構造によると考えられる。閉じた孔の割合は黒鉛の理論密度から計算しており、多層カーボンナノチューブの理論密度が小さいと考えられるので、これらの値も小さくなるはずである。ヤング率は 1200°C の固化体