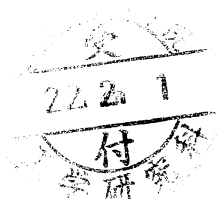


修士論文

平成 21 年度

糖被膜型磁性流体と PEG の複合に関する研究



三重大学大学院 工学研究科 博士前期課程

機械工学専攻

生体システム工学研究室

羽立 雄一

目次

1 緒言	・・・1
2 理論	・・・3
2.1 磁性体の理論	・・・3
2.2 糖被膜型磁性流体	・・・15
2.3 コロイドの基礎理論	・・・16
3 試料作製	・・・21
3.1 材料設計	・・・21
3.2 試料作製	・・・29
3.3 糖被膜型磁性流体における合成条件の設定	・・・35
4 評価方法	・・・36
4.1 PEG 化コンドロイチン硫酸	・・・36
4.2 糖被膜型磁性流体	・・・37
5 結果	・・・46
5.1 PEG 化コンドロイチン硫酸の合成	・・・46
5.2 糖被膜型磁性流体の特性	・・・51
6 考察	・・・57
6.1 PEG 化コンドロイチン硫酸の合成	・・・57
6.2 糖被膜型磁性流体の特性	・・・60
7 結言	・・・72
参考文献	・・・74

1. 緒言

ナノサイズの微粒子が別の物質に均一に分散している状態のものをナノコロイドと言い、特に分散させている溶媒が液体の場合をコロイド溶液という。このようなコロイド溶液の微粒子に、磁性を有する磁性微粒子を用いたものを一般に磁性流体と呼ぶ。磁性流体は磁性微粒子に加え、微粒子を分散させている溶媒、微粒子に被膜し微粒子どうしの凝集・沈殿を防いでいる界面活性剤の3要素から構成されている。一般的に工業的に応用されている磁性流体では磁性微粒子に酸化鉄を、界面活性剤には油性の高級脂肪酸が広く用いられている¹⁾。一方、界面活性剤の代わりに分散剤として生体適合性の高い糖を用いたものを糖被膜型磁性流体という。糖被膜型磁性流体は磁性微粒子に比較的安価で生体に対して毒性の低い酸化鉄を用い、溶媒に水を用いることで高い生体適合性を付与することができるため医療分野でも応用されている。特にナノサイズの磁性微粒子は超常磁性と呼ばれる特異な磁気特性を示すため、この特性を活かして現在は肝特異性の磁気共鳴イメージング (magnetic resonance imaging, 以下 MRI) の造影剤として実用化されている。²⁾

糖被膜型磁性流体は大きな磁気モーメントを有し固有の磁場環境を作り出しやすい酸化鉄を有していることから局所の磁化率の違いによる選択的な緩和 (T2) の短縮を行うことができる。肝臓には体内に進入した異物を貪食する細網内皮系 (reticuloendothelial system, 以下 RES) であるクッパー細胞が存在するため、体内に注入された糖被膜型磁性流体は正常な肝細胞が存在する部位であればこのクッパー細胞に取り込まれる。クッパー細胞に取り込まれた糖被膜型磁性流体は付近の ¹H 原子核の T2 を短縮し MRI 信号を低下させる。一方、悪性腫瘍などで正常な肝細胞が存在しない部位ではクッパー細胞が存在せず T2 の短縮が行われないため相対的に悪性腫瘍が高信号として描出される。

上述したとおり、糖被膜磁性流体は MRI の造影剤として医学的応用されているがドラッグデリバリーシステム (drug delivery system, 以下 DDS) による癌治療にも応用できる材料として期待されている。DDS とは薬剤を必要最低限の量で直接患部に送達させることで患部における薬剤濃度を高めると同時に不必要な部位への流入を防ぐことで薬剤の効果を最大限に引き出す。さらに、薬剤を患部に局限して集中投与できることから副作用を最小限に抑えるシステムである。近年、DDS の分野でナノ粒子はそのサイズ効果による溶解度の向上や生体内での滞留時間の延長に伴うターゲティング機能の向上など様々な利点を有していることから薬剤キャリアとして注目を浴びている³⁾⁴⁾。糖被膜型磁性流体もナノ粒子の一種であり、微粒子を高分子である糖で修飾している為この糖に薬剤を結合させることで、EPR 効果を利用した DDS の薬剤キャリアとして利用できる可能性を秘めている。ここで、EPR 効果とは、癌組織周辺に高分子や微粒子が蓄積するという効果である。癌組織が生成する血管 (新生血管) は通常の血管に比べ組織が荒いため、新生血管を通った高分子や微粒子は血管から漏れやすい。さらに癌組織ではリンパ管による高分子化合物の回収機構が

不完全である。そのため、新生血管から漏れ出た高分子や微粒子は癌組織に蓄積する。さらに、磁性微粒子を用いていることから NMR を利用したトレーサーとしての機能も付随させることができるため、癌の診断および治療が可能な材料として期待されている。しかし、糖被膜型磁性流体は先述した通り体内注入後は肝臓のクッパー細胞に取り込まれるため安定的に体内を循環することができず目的の部位に集積させることが出来ない。

一方、DDS に用いられる薬剤キャリアの一つにリポソームという材料がある。リポソームは 1965 年にイギリスの Bangham らによって見出された材料で、生体の細胞膜を構成している両親媒性のリン脂質で構成された閉鎖小胞体である。リポソームは二分子膜の閉鎖小胞体であるため内部に水溶性や脂溶性の薬剤を包含することでキャリアとしての機能を果たすことができる。しかし、リポソームも糖被膜型磁性流体と同様体内注入後はクッパー細胞のような RES に貪食されてしまい目的の部位に集積させることは出来ない。ところが、リポソームでは表面に水溶性高分子であるポリエチレングリコール (polyethylene glycol, 以下 PEG) を修飾 (PEG 化) することで RES からの貪食を防ぐステルス機能が付与されることが判明している⁵⁾⁷⁾。通常、体外から異物が進入した際にはその表面を血漿蛋白質の一群である補体や抗体が覆い、RES による貪食を受けやすくするための標識化を行う。これをオプソニン化という。しかし、PEG 化されたリポソームでは PEG が表面に水相を形成し立体障害によって補体や抗体の吸着を妨げオプソニン化を防ぐ。そのため、RES による貪食を回避し肝臓や脾臓から除去されることなく安定的に体内を循環することができるようになる。

これまで当研究室では種々の分散剤、磁性微粒子を用いた糖被膜型磁性流体の研究を行ってきた。なかでも分散剤の糖にコンドロイチン硫酸を用いたものは磁気特性が他の糖を用いたものと比べて優れており、かつ、分散能力が極めて高いため長期間安定的に微粒子を分散させておくことができる。そこで、本研究では分散剤にコンドロイチン硫酸を、磁性微粒子にマグヘマイトを用いた糖被膜型磁性流体に、RES による貪食を回避するためのステルス機能を付与させることを視野に入れ糖被膜型磁性流体への PEG 化を試みた。そのために以下の実験を行った。

①コンドロイチン硫酸に PEG を付加させた PEG 化コンドロイチン硫酸の創製を試みた。

②PEG 化コンドロイチン硫酸を分散剤に用いた糖被膜型磁性流体を作製することで糖被膜型磁性流体への PEG 化を試みた。

また、過去の研究より糖被膜型磁性流体の諸特性は分散剤が有する官能基の違いによって変化することが明らかとなっている。そこで PEG 化された糖被膜型磁性流体は通常のコンドロイチン硫酸を用いて作製したものと比べ諸特性が変化している可能性があるため両者の比較検討を行うとともに最適合成条件の検討を行った。

2. 理論

2.1 磁性体の理論

2.1.1 磁性

本研究で作製する糖被膜型磁性流体の重要な性質の一つに磁氣的性質（磁性）がある．磁石や磁気記録装置として広く利用されている磁石は強磁性体であるが，物質の磁性は以下のように分類できる．

(a) 反磁性 (Diamagnetism)

反磁性物質では磁化率 (Magnetic susceptibility) の値は小さく，負となる．つまり外部磁場が働いたときも磁場の方向とは逆の向きに磁化される．

(b) 常磁性 (Paramagnetism)

外部磁場がないとき，磁気モーメントの配向は熱運動のために無秩序となり互いに打ち消しあい全体としてみると磁化を示さない．外部磁場が作用するときは全体として磁場の方向に磁化される．

(c) フェロ磁性 (Ferromagnetism)

フェロ磁性体では物質中の磁気モーメントが平行に並んでおり，原子の磁気モーメントが互いに強く相互作用して，外部磁場がない場合でも自発的に並んでいる．

(d) フェリ磁性 (Ferrimagnetism)

フェロ磁性とほぼ同じ磁気特性を示すが，フェロ磁性では磁気モーメントが平行に並んでいるが，フェリ磁性では磁気モーメントが逆平行となっている．そのためフェリ磁性の磁気モーメントはその差となり生じる．

(e) 反強磁性 (Antiferromagnetism)

反強磁性体はフェリ磁性と同じく磁気モーメントが逆平行となって，その大きさが等しい物質である．

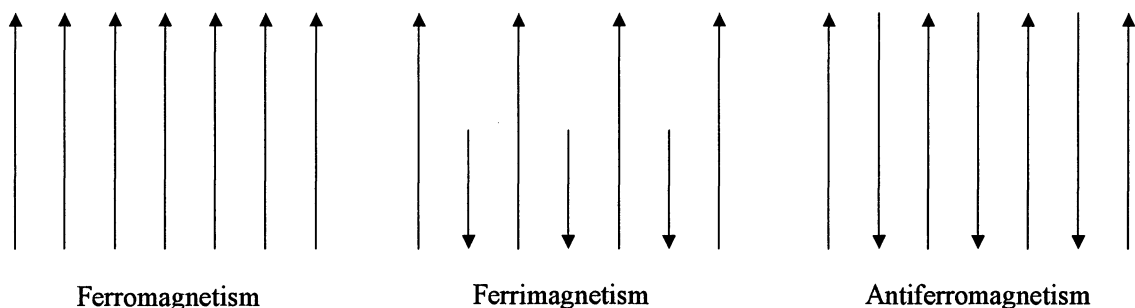


Fig.2.1 Array of magnetic moment

2.1.2 物質の磁気的特性

(a) 磁石とは

釘は磁石にくっつく。この針をはずして方向磁針に近づけると針がふれる。磁石にくっつける前の釘を方向磁針に近づけても針は動かない。釘を磁石につけたことによって、釘の性質が変わる。磁石を近づけても方向磁針の針が動くから、釘も磁石になったのだと考えることが出来る。このことを釘は磁化されたという。

この現象は次のように説明されている。釘に限らず、常温付近の鉄は、その内部が Fig.2.2 のようにいくつかの小部分に分かれていて、各小部分は一つの磁石になっている。その小部分を磁区、境界領域を磁壁と呼ぶ。磁石には N 極と S 極があるが、各磁区の端は、それぞれ、N 極と S 極で、Fig.2.2 の矢印は、一つの磁区の中で S 極から N 極に向けてひいてある。

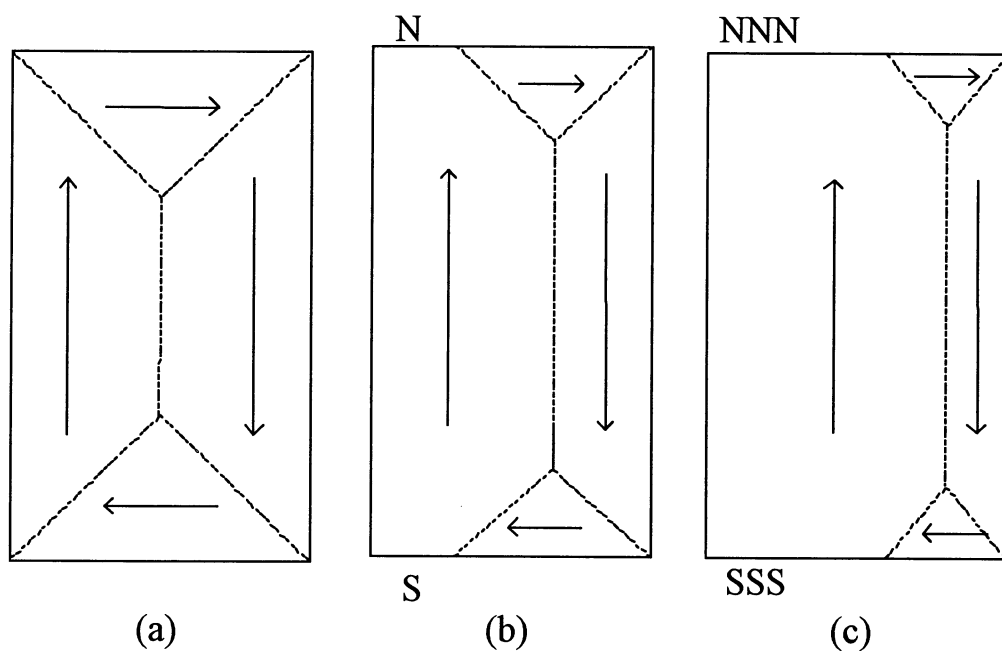


Fig.2.2 Magnetic domain structure of ferromagnetic body

この Fig.2.2 のように、磁区ごとに磁石の向きが異なり、Fig.2.2(a)の試料では、試料の外には、磁極が現れない。したがって、この試料からは磁力線が外部にでておらず、方向磁針を近づけてもその針に何の変化もない。Fig.2.2(a)の試料に磁石を近づけるなどして外から磁場をかけると、磁壁が動き、磁区は Fig.2.2(b)(c)のように変わっていく。この過程で磁場に平行な向きの磁石をもつ磁区が増加し、同時に試料表面に磁極が現れる。こうして現れた S 極は、方向磁針の N 極を、N 極は方向磁針の S 極を引きつける。釘は、このように

して、磁化されるのである。磁石を遠ざけて、外からの磁場がなくなると、試料の元の Fig.2.2(a)の状態に戻ろうとするのであるが、磁壁が移動の途中で試料中の不純物や格子欠陥などにひっかかると、完全に元には戻れず、Fig.2.2(b)のような状態で止まってしまう。磁石から離れた直後の釘は、この状態になっており、まだ表面に磁極がのこっているので、方向磁針を近づけるとその針が動くのである。このときの試料の磁石の強さを残留磁化という。この試料の磁区構造を Fig.2.2(a)の状態にまで戻すには、ある強さの反対向きの磁場をかけて、途中でひっかかっている磁壁を強引にもとの位置へ動かしてやらなくてはならない。このときの磁場の強さを保磁力という。

(b) 磁化曲線

釘を電磁石の磁場の中に入れて、磁場を変えながらその磁化の変化を測ると、それは Fig.2.3 のようになる。ここで磁化というのは、単位体積中の磁気モーメントのことであるが、要するに釘の磁石の強さのことである。始めに釘は磁石になっていなかったとして A から出発する。

この点は磁場も釘の磁化もゼロの点である。磁場をかけてしだいに強くすると、釘の磁化も増加し、①と記した曲線をたどっていく。やがて、磁場をいくら強くしてもそれ以上釘の磁化は増加しなくなる。このときの釘の磁化を「飽和磁化」という。そこで B までいったところで磁場を弱くしてゆく。このとき、釘の磁化は①に沿ってではなく、②の曲線のように減少していく。したがって磁場の値がゼロになっても、釘はなお磁化をもっている。このときの磁化 M_r が残留磁化である。磁壁がどこかにひっかかっている、元に戻れないのである。ここから、磁場の向きを逆転して、強くしていくと、保磁力 H_c のところで釘の磁化はなくなり、さらに磁場を強くしていくとやがて、釘の磁化は、先ほどとは反対向きに飽和する。C の点から再び磁場を弱くしていくと、釘の磁化は今度は③の曲線に沿って変動する。このような曲線を磁気ヒステリシスと呼ぶ。

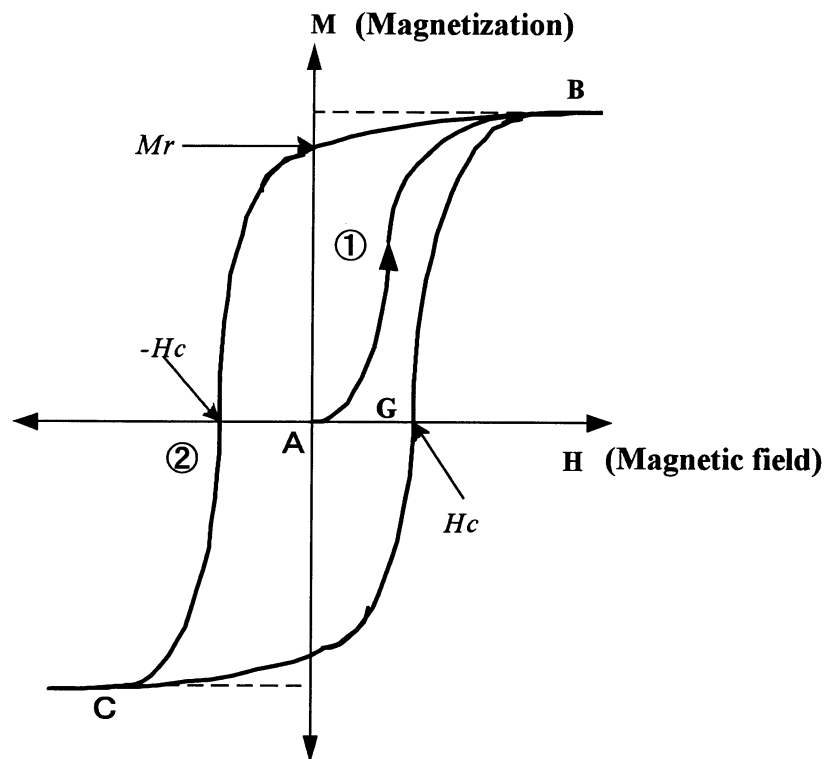


Fig.2.3 Magnetization curve

(c) 軟磁性と硬磁性

磁性材料のなかでも最近、急に利用が盛んになってきたのが、ハードディスクドライブの防塵シールや、キャッシュカード、フロッピーディスク、カセットテープなどの磁気記憶媒体である。そこでは、マグネタイトやマグヘマイトが利用されているが、この場合の有用な磁性体とは、残留磁化が大きく保磁力・飽和磁化の大きいものである。実際、録音済みのカセットテープでは、鉄粉は磁化されて残っているのだから、これは残留磁化がテープにはりついているようなものである。再生時はこの残留磁化の信号を電気信号に変えるわけで、出力を大きくするためには残留磁化が強いほどよい。また、磁化された酸化鉄が内部につくる反磁場によって自分の磁化を消してしまわないためには、保磁力の大きいことが必要である。それに、保磁力が強ければ磁気転写もおこりにくい。磁気転写とは、リールにまいた磁気テープのある部分の作る磁場によって、巻き重ねた上下のテープの部分に、その部分の記録が転写されることをいう。

強磁性体は、その材料の種類によって、Fig.2.3 のような特有のヒステリシスループを描く。保磁力 H_c の大きいものは、硬磁性材料と呼ばれ、永久磁石に用いられる。一方、 H_c

の小さいものは軟磁性材料と呼ばれ、普通、透磁率が大きく、電力用変圧器、モータ、発電機に用いられる。

(d) 磁気モーメント

それぞれの磁区の中がどうなっているのか局在スピン模式図を用いて考える。この模式図では各原子が小さな磁石、すなわち磁気モーメントを持っていて、それはその原子に局在した内殻電子が担っていると考えるのである。Fig.2.4 の丸は、各原子に局在した内殻電子を、矢印はその磁気モーメントを表す。矢印の先端が N 極、尻尾が S 極である。

ある試料の中の内殻電子の磁気モーメントが Fig.2.4 (a)のように互いに勝手な方向を向いているとき、その試料はまったく磁石の性質をもたない。磁区構造もないのである。それに対し、釘の中ではとなりあう原子の磁気モーメントの間に互いに平行になろうとする力が作用し、大部分の磁気モーメントが Fig.2.4 (b)に示したように同じ向きに揃うようになる。この Fig.2.4 (b)では、他の方向を向いている磁気モーメントもあるが、大部分は上を向いている。したがって、この領域は、正味、上向きの磁石になっている。このような磁区の内部の単位体積あたりの磁気モーメントの和を自発磁化という。なお、大多数の磁気モーメントとは違う方向を向く磁気モーメントの数は、温度が下がるにつれて少なくなっていく、絶対零度では一つの磁区の中の磁気モーメントはすべて同じ方向を向いている。

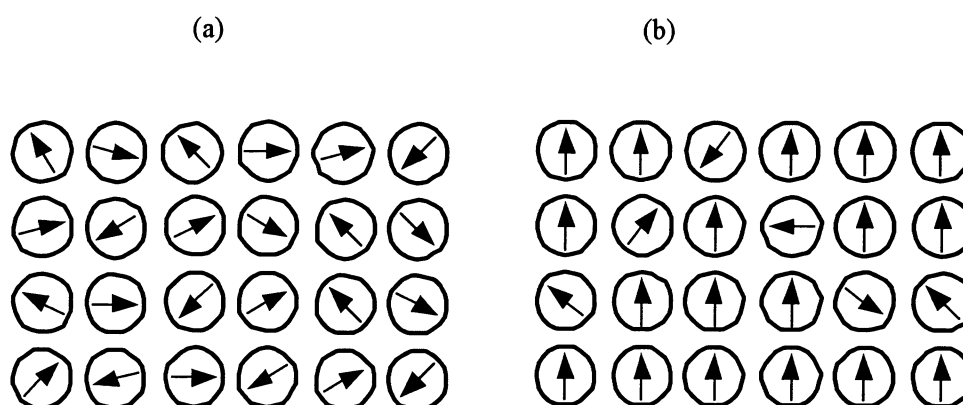


Fig.2.4 Core electron and magnetic moment in each atom

このように電子などのもつ磁気モーメントの向きが揃おうとする性質を強磁性といい、強磁性をもつ物質を強磁性体という。また、磁気モーメントを互いに平行にしようとする力を強磁性相互作用という。

(e) 磁区構造

Fig.2.5(a)のように、一つの鉄の塊の中ですべての磁気モーメントが全部同じ向きに揃っていたとする。内部で接近しているN極とS極は、合わせると磁極がないのと同じだから簡単化するために消してしまうと、Fig.2.5(b)のように、試料の両端に磁極が残る。こうして残ったN極から磁力線がでてS極にはいる。このうち、試料の中を通る磁力線と、Fig.2.5(a)の各磁気モーメントとは向きが反対である。このような磁場を反磁場という。ところで、ここで考えている内殻電子の磁気モーメントは、いつも磁力線と同じ向きになろうとする性質がある。それなのに、試料の両端からでる磁力線とは反対向きなので、これは大変「居心地」が悪く、なんとかして、もっと「居心地」をよくしようとして自ら向きをかえて、磁区構造ができるのである。

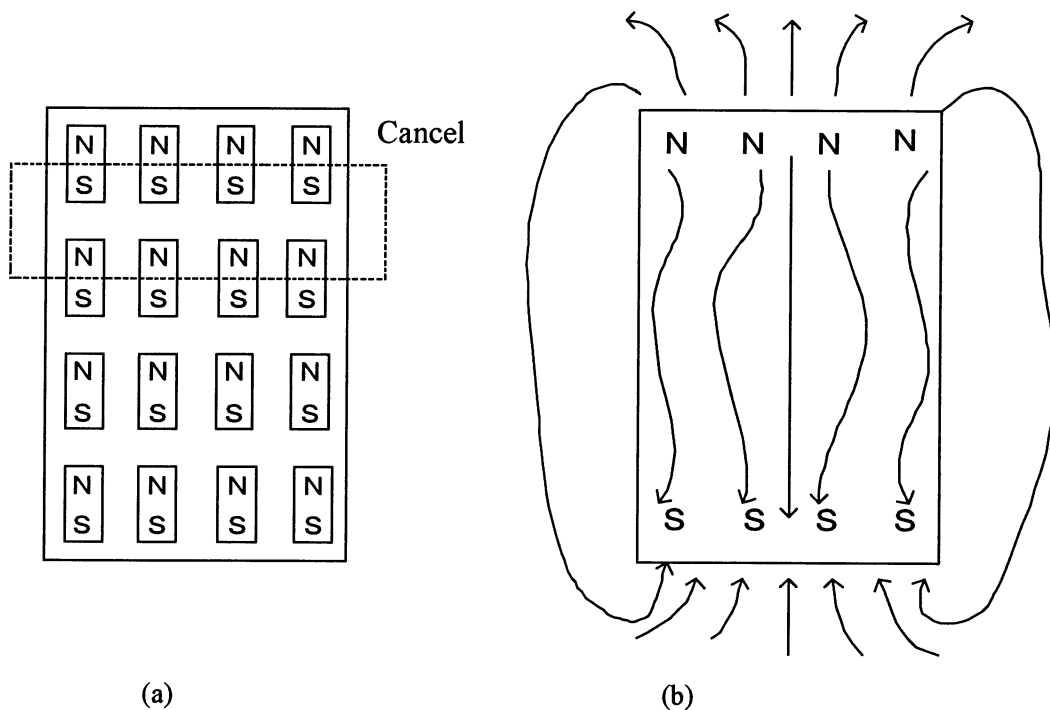


Fig.2.5 Principle of magnetic domain structure

(f) 超微粒子の単磁区構造

磁壁の両側にある原子の磁気モーメントの間に強磁性相互作用が働いて互いに平行となろうとするのだから、磁壁の中の磁気モーメントは、少しずつ向きを変えているはずである (Fig.2.6)。強磁性相互作用にとってはこの向きの変更はなるべくゆっくり行われたほうが良い。そのためには、磁壁は厚いほうがよさそうだが、磁壁は厚ければよいというものでもない。それは、固体中では結晶構造の異方性を反映して、磁気モーメントの向きやす

い方向（これを磁化容易軸という）と向きにくい方向があるからである。この異方性を磁気異方性という。例えば、Fig.2.6 において上下方向が磁化容易軸で、磁気モーメントは、上か下を向きやすいとする。すると、磁壁の中の磁気モーメントは、どれも向きたくない方向に向くことを強いられていることになる。このような磁気モーメントの数をなるべく少なくしようとすると、磁壁は薄いほうが良い。

磁壁の厚さというのは、これら二つの相反する要請を妥協させるように決まる。その予想値は研究者により、また研究対象である物質によりばらばらであるが、100nm から、1000nm の間のようなものである。

粒径が磁壁の厚さ程度になると、その中に磁区をしきる磁壁のできる余地がなくなるので、このような微粒子は、単一の磁区をもつことになる。これを単磁区構造という。

単磁区構造になった微粒子では、その表面に N 極と S 極が現れることになる。従って超微粒子は、それ自身が一つの小さな磁石であり、磁化された砂鉄と似ている。磁石の上に紙を置き、その上に砂鉄を撒くと砂鉄の一粒一粒が磁石になり、それが磁力線に沿って並ぶ。このとき、一つの粒の N 極はとなりの粒の S 極にくっついて、こうして砂鉄は鎖状に並ぶのである。砂鉄の場合は磁区構造を持つので、磁石を近づけてはじめて磁化された砂鉄が鎖状に並ぶのだが、強磁性体超微粒子の場合は、磁場がなくとも磁石になっているのだから、外から磁場をかけなくても鎖状に並ぶことが期待される。

このような単磁区構造の超微粒子の保磁力は、バルクな物質より大きくなることが期待される。実際、実験によると、150nm の超微粒子の保磁力は、2000 nm の粒子の二倍強もある。ちなみに、鉄の超微粒子は、直径が 200 nm 程度よりも小さくなると単磁区構造になると考えられている。

単磁区構造の磁性体の保磁力が大きいのは、自発磁化の反転が粒子内の磁気モーメントの一斉回転によって起こるからである。反転する前も後も、自発磁化は磁化容易軸を向くのだが、回転の途中で、本来なら向きたくない方向を向かなくてはならない。いわば、磁気モーメントは異方性エネルギーという山を越えなくてはいけないわけである。バルクな磁性体の磁化は（磁場が極端に大きくない限り）、磁壁の移動によって起こる。このときも磁壁内部の磁気モーメントは異方性エネルギーの高い方を向いているが、それは磁場をかける前からそうだったのであって、磁壁の移動に際してエネルギーの高い磁気モーメントの数が増えるわけではない。それに対して、回転磁化の場合は、異方性エネルギーの山を越えるだけの活力を磁気モーメントに与えるために、強い磁場をかけなくてはならないのである。

この異方性エネルギーは、回転する磁気モーメントの数に比例するのだから、大きい粒子ほど回転しにくく、保磁力も大きい。逆に保磁力は、粒径が小さくなって磁気モーメントの数が小さくなるほど弱くなる。そうして、あるサイズ以下の微粒子の保磁力の大きさはゼロになる。これは、異方性エネルギーがなくなるからではない。異方性エネルギーの効果は磁気モーメントの向きが熱的ゆらぎによって弱められる。このために、ある大きさ

より小さい微粒子では絶対零度でない限り、異方性エネルギーの効果より熱的ゆらぎの効果が上回るようになる。したがって、見かけ上異方性エネルギーがなくなり、保磁力はゼロになる。

そこで、単磁区構造の微粒子の、保磁力とサイズの関係を図示すると Fig.2.7 の実線のようにになる。横軸は超微粒子の直径を現し、 D_p は保磁力がゼロになる時の直径である。後で分かるように、 D_p は温度に依存するが、実験によると、常温の鉄の場合には 100 nm 程度で、粒子のサイズが充分大きくなると、今度は保磁力が Fig.2.7 に点線で示したように減少していく。これは磁区構造が出来て、磁壁の移動による磁化反転が起こるからである。また、強磁性相互作用は、磁場と同じ働きをするという意味である。強磁性体での自発磁化とは、外からの磁場はなくても強磁性相互作用による磁場によって自発的にできた磁化という意味である。

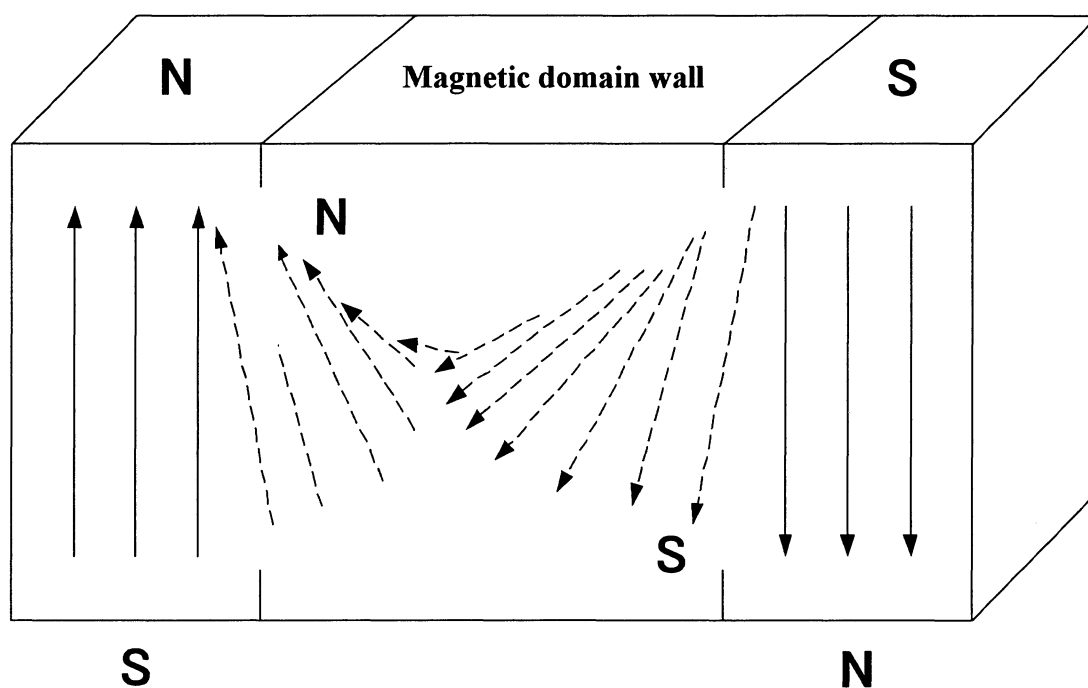


Fig.2.6 Domain wall and magnetic moment

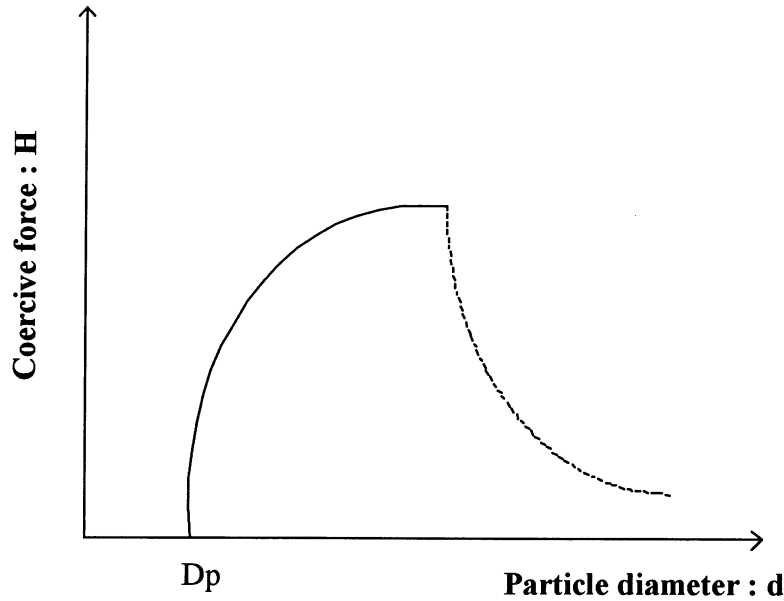


Fig.2.7 Relation between particle size and coercivity of ferromagnetism particle

詳しい理論によると、一個のイオンの持つ磁気モーメントを μ ，単位体積中のイオン数を N として、磁化の値 M は、磁化 M として

$$M = N_{\mu} B_s \left(\frac{\mu H}{k_B T} \right)$$

とすると

$$B_s(x) = \frac{2S+1}{2S} \operatorname{ctnh} \left(\frac{(2S+1)x}{2S} \right) - \frac{1}{2S} \operatorname{ctnh} \left(\frac{x}{2S} \right)$$

と定義されるブリルアン関数と呼ばれる関数を用いて表される。全ての磁気モーメントの向きが揃えば、全磁気モーメントの大きさは飽和値 $N\mu$ のなるはずだから、ブリルアン関数は、実際の磁化が飽和値よりどれだけ小さいかを表している。 S は、イオンの持つ電子スピン量子数と呼ばれ、イオンの元素によって $1/2$ 、 1 、 $3/2$ ・・・という整数または奇数の半分の値をとる量である。スピン量子数が S の場合、磁気モーメントは $(2S+1)$ 種類の向きを向くことが出来る。

また、磁化は、磁場と温度に依存するが、この二つの量にばらばらに依存するのではなく、 (H/T) という組み合せたものの関数だということも重要である。また、 $B_s(X)$ という関数は、 $S \rightarrow \infty$ である関数 $L(X)$ に近づく。この関数はランジュバン関数と呼ばれ、磁化を古典統計力学で計算すると、 B_s の代わりにこの関数が出てくる。

$S \rightarrow \infty$ の時、

$$B_s(x) \rightarrow L(x) = \coth\left(\frac{\mu H}{k_B T}\right) - \left(\frac{k_B T}{\mu H}\right) \dots \dots \text{(ランジュバン関数の式)}$$

常磁性体の試料に非常に強い磁場をかけると磁化は飽和し、そのとき試料中の全ての磁気モーメントは同じ方向を向く。磁化を飽和させて磁場を切ると、この試料の磁化は再びゼロとなる。これは、磁場がない時の常磁性体は、磁化のない状態が最も安定しているからである。実は磁化は、一度にゼロになるのではなく、ある一定の時間変化を経てゼロになる。この現象を磁気緩和現象（厳密には縦磁気緩和）という。

$$M(t) = M_0 \exp\left(-\frac{t}{\tau}\right)$$

この緩和は、必ずしも磁化が飽和したところから始まる必要はなく、 M_0 は磁場をきる直前の、任意の磁化の値である。 τ は緩和時間と呼ばれ、試料の種類や温度に依存する。磁化は、磁気を切ってから τ 秒後に、初期値の $1/e$ となり、その後は、 τ 秒ごとに公比 $1/e$ で等比数列的に減少する。

磁気緩和は、磁気モーメントの熱的ゆらぎによって起こる。たとえば、全ての磁気モーメントを磁場の方向にそろえても、磁場を切ると個々の磁気モーメントは再び自由に向きを変え始める。

(g) 超微粒子の磁気緩和と超常磁性

ここでは、直径が Fig.2.7 の D_p より小さい単磁区構造の超微粒子について述べる。常温の鉄なら、数十 nm という小さい粒子である。ただし、個々の粒子は多数の磁性イオンを含んでいるが、イオンの持つ磁気モーメントの間の相互作用の影響は熱的なゆらぎに比べて充分強いため、イオンの磁気モーメントはそれぞれの粒子内部では向きが揃っている。すなわちそれぞれの粒子は、飽和値に近い自発磁化を持っている。しかし、これらの超微粒子は互いにある距離を置いていて、粒子同士の磁気的な相互作用はないと考える。すると、Fig.2.8(a)のように微粒子ごとに磁気の向きはバラバラになっているであろう。この Fig.2.8

ではイオンの磁気モーメントを矢印で表したが，その代りに各超微粒子のもつ磁気モーメントの和を矢印で示すと，もう少し簡単な Fig.2.8(b)になる．こうなると，あたかもランダムに配置されたイオンの常磁性状態と同じような図になる．ただし，一つの矢印が意味するのは粒子中の全磁気モーメントであり，粒子中の磁性イオンの数の平均値を N_p ，一個のイオンの持つ磁気モーメントを μ として $N_p\mu$ 程度の量を表す．いわば，巨大な原子の持つ磁気モーメントが常磁性状態にあるようなもので，超微粒子のこのような磁気的状態を超常磁性状態とよぶ．超常磁性は外部から磁場を印加された時のみ各超微粒子の磁気モーメントが磁場方向に配向し磁化を示し，磁場を取り除くと元の常磁性状態に戻る．その為，磁化曲線は Fig.2.9 に示すように磁気ヒステリシスを示さず，ランジュバン関数で表される一定の曲線にのり，残留磁化も保磁力も有しない．

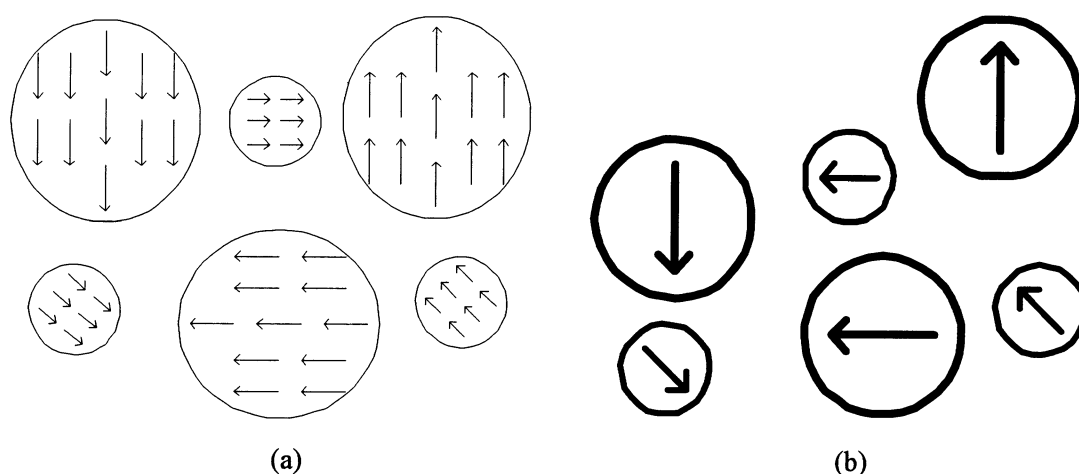


Fig.2.8 single-domain superfine particle

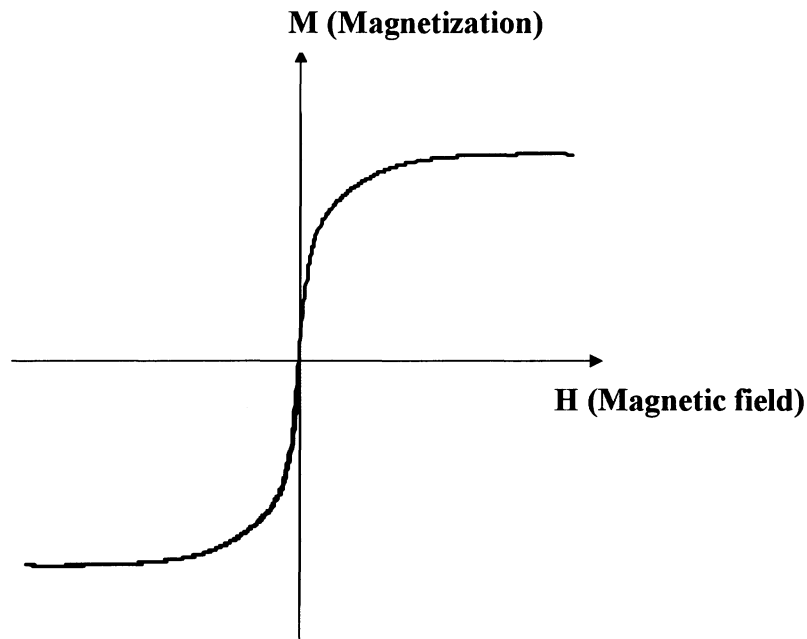


Fig.2.9 Magnetization curve of superparamagnetic particle

ここで、これまでは Fig.2.7 の D_p より小さい粒子の話をしてきた。 D_p より大きい粒子は強磁性を示す。 それでは、 D_p はどうやって決めるのか。

磁気モーメントが熱的にゆらいで、絶えずその向きを変えているという事は、常磁性イオンにありふれた現象であるが、それは一個のイオンだから起こりやすかったのである。超常磁性微粒子の磁気モーメントの向きが変わるためには、その構成要素の各イオンの磁気モーメントがほとんど一斉に向きを変えなくてはならない。しかし、熱的にゆらいでいるのは個々のイオンの磁気モーメントであって、何千個もある磁気モーメントが一斉に向きを変えろということは非常にまれにしか起こらない。現実には起こることは、あるイオンの磁気モーメントが熱的ゆらぎによって下を向き、それがまだ上を向いたままの残りの磁気モーメントにひかれて再び熱的ゆらぎによって上向きに戻る前に、周囲にあるほかの磁気モーメントが下に向きをかえ、それがさらに周囲の磁気モーメントの向きを変えろというように、何段階もの反転が起こり、ついには全磁気モーメントが下向きになるということである。

ところが、ここにイオンの磁気モーメントの向きを妨げるものがある。異方性エネルギーである。 Fig.2.7 の超微粒子の結晶軸は粒子ごとに異なり、そのために容易軸方向も格子ごとに異なるため、磁化の方向も粒子ごとにバラバラなのである。イオンの磁気モーメントが他の容易軸方向へ向きを変えるためには、異方性エネルギーのピークを越えなければならない。回転磁化の場合は、外からの磁場が異方性エネルギーのピークを越すのを助け

たが、今度はそれぞれのイオン磁気モーメントは、外部からの助けを借りずに熱的にゆらぎながらこのピークを越えなくてはならない。

これより、熱的ゆらぎにより、全てのイオンの磁気モーメントが異方性エネルギーのピークを越す確率は、異方性エネルギーが大きいほど、また一つの微粒子中の磁気モーメントの数の大きいほど確率は小さくなる。従って、磁気モーメントをたくさん含む微粒子がその磁気モーメントの向きを変えるまでには、長い時間待たなくてはならない。すなわち、緩和時間が非常に長い。緩和時間は、前述の確率の逆数に比例するからである。緩和時間がどれほど強く微粒子の大きさに依存するかということを知るために、一つの例を示す。鉄微粒子の場合、常温において直径が 115 nm の場合の緩和時間は 10^{-1} 秒程度であるが、直径 150 nm になると 10^9 秒（約 30 年）になる。

超常磁性を観測するためには、タイムスケールに比べて、この緩和時間が短くならなくてはならない。緩和時間が長い微粒子は単磁区構造の強磁性体であり、その間にしばしば向きを変えるような緩和時間の短いものは超常磁性体である。

超常磁性の緩和時間は、粒子のサイズの他に、温度によっても変化する。温度が高いほど磁気モーメントは活性化され、異方性エネルギーのピークを越えやすい。すなわち、緩和時間が短いのである。いいかえれば、 D_p は温度が高いと大きくなり、温度が下がると小さくなる。

なお、これまで緩和時間は粒子のサイズや温度で決まると考えてきたが、粉体では緩和時間の長い粒子でも、液体に分散させコロイドにすると緩和時間を短くすることが出来る。その理由は、液体中では微粒子自体が回転できるからである。液体分子は絶えず超微粒子と衝突し、そのために超微粒子は絶えず動いている。これはブラウン運動と呼ばれる現象であるが、同時に向きも絶えず変わる。だから、磁化容易軸の向きが絶えず変動し、それに伴って超微粒子の自発磁化の向きが絶えず変わるのである。この場合、磁気モーメントの向きの変更に異方性エネルギーのピークを超える必要はないので、比較的大きい微粒子でもコロイドになれば超常磁性を示す⁸⁾。

2.2 糖被膜型磁性流体

磁性流体とは磁性微粒子を溶媒である液相中に安定に分散させたコロイド溶液である。磁性微粒子の濃度が高く保たれているため、微粒子はブラウン運動により溶媒分子とランダムに衝突している。そのため、この流体に磁場をかけると磁性微粒子に加えられた磁気力は溶媒分子に伝わり巨視的には磁気力が流体に加わったことになり液体全体が磁石に吸引される¹⁾。しかし、微粒子を液相中に混合しただけでは磁氣的引力や粒子どうしの界面エネルギーを小さくしようとする働きによって凝集、沈殿を起こしてしまい安定に分散させることができない。そのため、微粒子の表面に界面活性剤などの分散剤を被膜することで微粒子と溶媒との親和性が増すように粒子表面を改質し、微粒子間に反発力を生じさせて微粒子同士の凝集を防いで安定的に分散させている。この分散剤に糖を用いたものが糖被

膜型磁性流体である。その模式図を Fig.2.10 に示す。

糖被膜型磁性流体の構成要素の中で磁性を有する部分は磁性微粒子のみであるため、磁性流体の磁気特性は主に磁性微粒子によって決定される。用いられる磁性微粒子は酸化鉄の一種であるマグヘマイトが一般的である。粒子の大きさは数 nm と非常に小さく磁性は超常磁性を示すため、磁場がなければただの液体であり磁場を印加することで初めて磁性を発揮する。

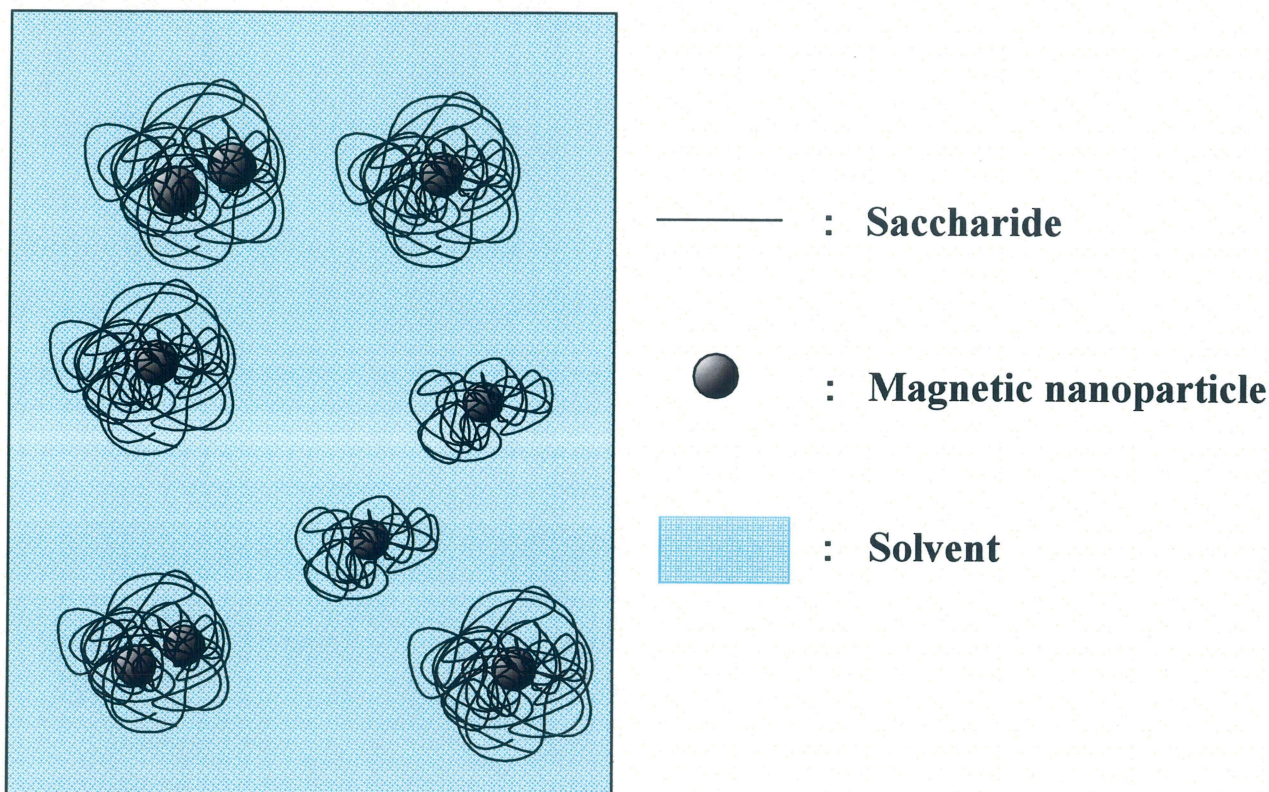


Fig.2.10 Structure of magnetic nanoparticle coated with saccharide

2.3 コロイドの基礎理論

2.3.1 極性

固体表面には電子が偏在しているから静電場が生じる。静電場の強さは pH により変化する。これはイオン結合している無機塩や金属酸化物表面は水と接触すると、水和反応により水酸化物を形成するが、このヒドロキシル基 (-OH) の解離が pH によって変化するためである。Fig.2.11 はアルカリ性水溶液中での解離を示す。金属酸化物表面は、アルカリ性水溶液中では負に、酸性水溶液中では正に帯電する。帯電がゼロとなる pH は金属酸化物の種類によって異なるが、その pH を等電点という。本研究で用いるマグネタイト (Fe_3O_4) の等電点は 6.5 ± 0.2 である。

2.3.2 電気二重層

水溶液と接する粒子表面は、溶液中からのイオンの吸着、あるいは表面の解離反応によって表面電荷を帯びている。表面電荷と反対符号の溶液中の対イオンは静電的に表面電荷に引きつけられ強く吸着しイオン固定層を形成する。しかし、表面電荷が影響を及ぼす範囲には限度があり粒子表面からの距離が遠くなるにつれその影響力が弱まる。そのため対イオンはイオンの熱運動によってバルク溶液中へ拡散しようとする。その結果、固-液界面にはある程度の広がりを持った拡散電気二重層が形成される。粒子表面近傍のイオン固定層を **Stern 層** と呼び、**Stern 層** より外側の層を拡散層と呼ぶ。Fig.2.11 に負に帯電した粒子が形成する電気二重層の模式図を示す。**Stern 層** と拡散層の境界は **Stern 面** と呼ばれ、最も表面に接近した対イオンの中心面で表面に化学的親和性を有するイオンが特異吸着を起こす面である。粒子表面から溶液の沖合にかけての電位の変化は **Stern 層** と拡散層の二つの部分に分けられる。**Stern 層** 内には電荷が存在しないので、電位は直線的に変化し拡散層へと続き、拡散層では指数関数的に変化していく。Fig.2.12 に **Stern 層** 周辺の拡大図と粒子から十分に離れて電氣的に中性である領域の電位をゼロとした時の電位分布の模式図を示す。

2.3.3 分散剤

分散剤には界面活性剤が多く用いられている。界面活性剤は一つの分子中に極性基（親水基）と非極性基（親油基）の両方を持つような化合物（両親媒性物質）で、親油基の大きさと構造に依存する疎水性の強さと、親水基の数と構造による親水性の強さとのバランスにより界面活性度が異なる。分子量が数千以上で界面活性機能を有するものを一般に高分子界面活性剤と呼ぶ。

粒子は粒子径が小さくなるにつれてその比表面積は大きくなり、表面自由エネルギーが増大するため不安定となる。そのため、粒子は凝集により見かけの表面積を減じて安定化しようとする。このような粒子の凝集を防ぐためには、微粒子化した粒子の新しい表面に固体粒子以外の溶媒や分散剤を吸着させて、表面自由エネルギーを低下させなければならない。分散剤は、固体粒子の固/液界面に吸着し、固/液の界面エネルギーを低下させて微粒子化を促進する。さらに、微粒子化された粒子どうしの凝集に対してエネルギー障壁をもうけることにより、凝集を妨げ分散安定化をはかる。分散安定化をはかるための粒子どうしの接触に対する斥力には（1）イオン性分散剤が固体表面に吸着することによって生じる静電的斥力、（2）固体表面に吸着した分散剤の吸着層によって生じる立体障害的斥力の二つが考えられる。これらの斥力がファンデルワールスの引力より大きければ分散は安定化する。

2.3.4 高分子の吸着と分散作用

天然および合成高分子の多くは、コロイド粒子の表面に吸着して厚い吸着層を形成するので、分散系の安定性に大きな影響を与える。高分子吸着層の構造は一般に Fig.2.14 に示すようなループ・テイル・トレイン構造をとる。すなわち界面に直接付着したセグメント部分

(train 層) と溶液中に拡がった部分 (loop 層, tail 層) から成っており微粒子の安定性には loop 層や tail 層の割合やそれらの長さが大きな影響を及ぼすものと考えられている。このような高分子の吸着性は高分子の種類とその分子量, 担体表面の性質および溶媒の高分子に対する溶解性に影響される。

吸着担体は高分子吸着の **driving force** を決定する点で重要である。driving force としては静電気力, 疎水結合力, ファンデルワールス引力, および水素結合力等が考えられるが, 通常の場合では二種類以上の力が同時に作用して高分子吸着が形成される場合が少なくない。一般的に言えることは負に解離した極性基を持つ高分子が明らかに負電荷の固体表面にも吸着することであり, 静電気力が疎水性引力や高分子特有のエントロピー効果で打ち消されてしまうことである。そのような現象はタンパク質の固体表面への吸着の際によく見られる。

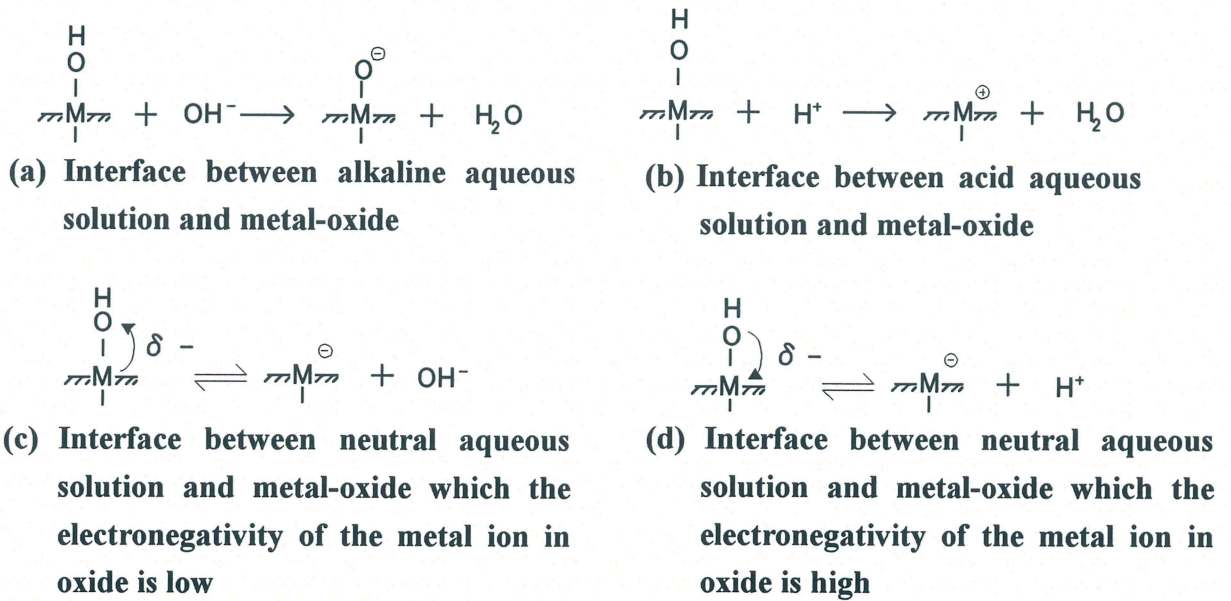


Fig.2.11 Variation of solution interface

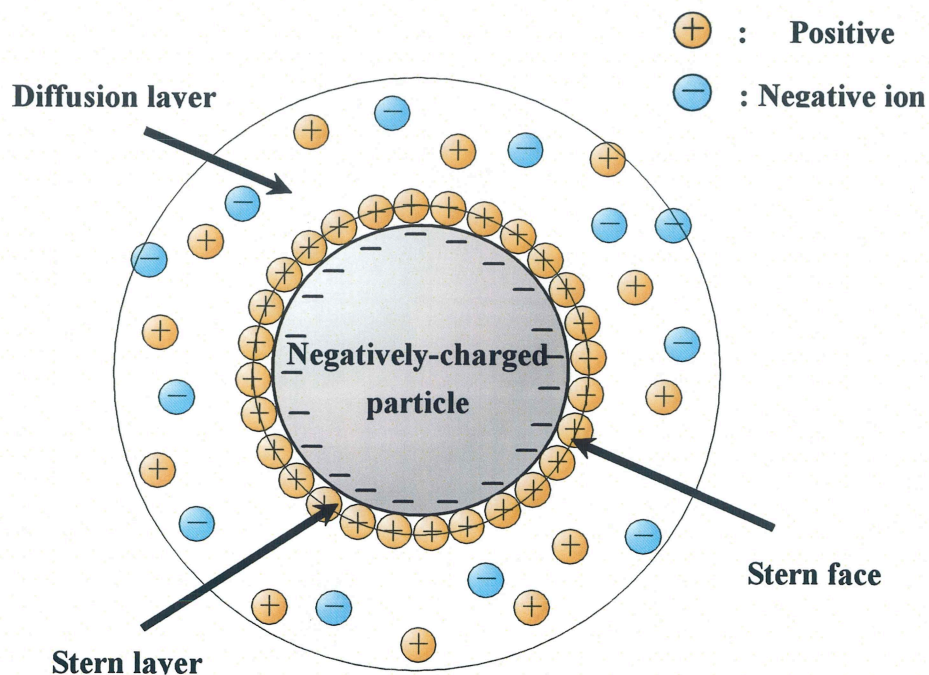


Fig.2.12 electrical double layer

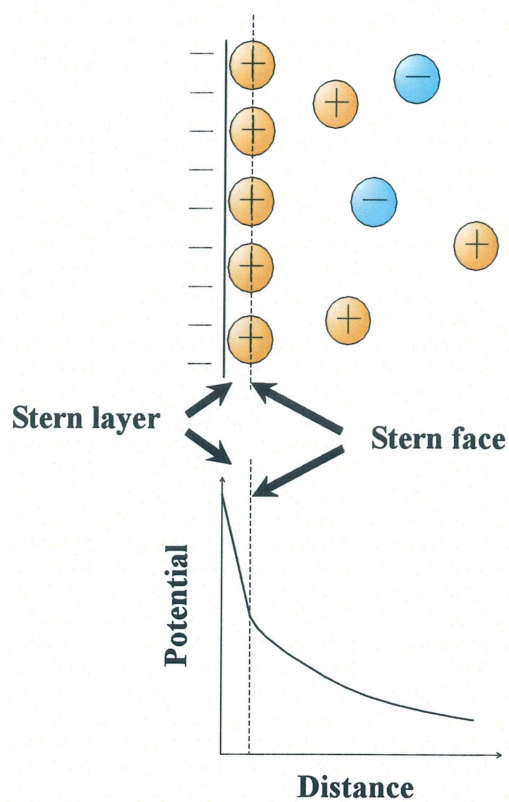


Fig.2.13 Distribution of potentials of electrical double layer

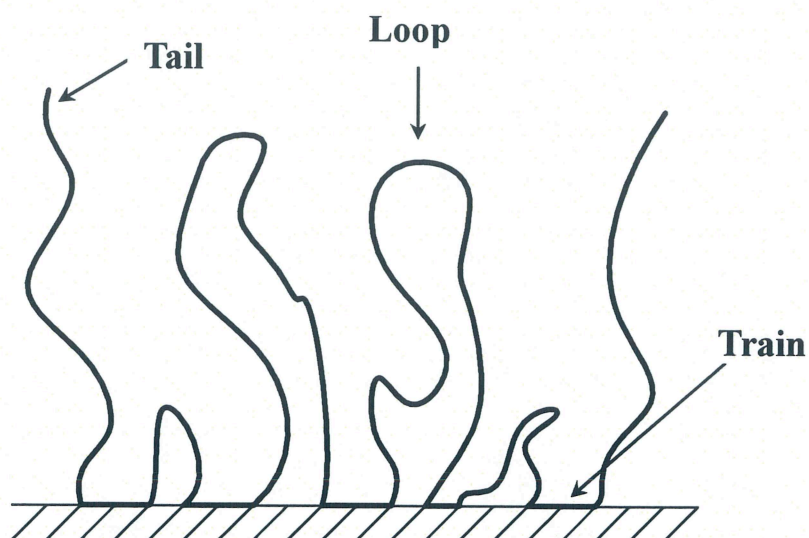


Fig.2.14 Structure of loop·tail·train

3. 試料作製

3.1 材料設計

3.1.1 PEG 化コンドロイチン硫酸

本研究では、PEG をコンドロイチン硫酸に付加させた PEG 化コンドロイチン硫酸を作製するにあたり、コンドロイチン硫酸が有するカルボキシル基 ($-\text{COOH}$) と PEG が有する水酸基 ($-\text{OH}$) に着目し、エステル化を行うことで PEG とコンドロイチン硫酸の縮合を試みた。エステル化とはカルボン酸とアルコールを反応させカルボキシル基一つと水酸基一つから水分子一つがとれて (脱水縮合) エステルを形成させる反応である。Fig.3.1 (a) に一般的なエステル化の反応式を示す。エステル化を行う方法はいくつかがあるが、本研究では脱水縮合剤を用いたエステル化を行い、脱水縮合剤にはジシクロヘキシルカルボジイミド (N, N' -Dicyclohexylcarbodiimide, 以下 DCC) を用いた。Fig.3.1 (b) に具体的な反応機構を示す。また、触媒となる反応活性剤には 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (1-hydroxybenzotriazole, 以下 HOBt) を、系の溶媒には N, N -ジメチルホルムアミド (N, N -dimethylformamide, 以下 DMF) を用いた。以下にコンドロイチン硫酸、PEG、DCC、HOBt、DMF について述べる。

(a) コンドロイチン硫酸 (Chondroitin sulfate)

グリコサミノグリカン (酸性ムコ多糖) の一種。ウロン酸の一種である D-グルクロン酸とアミノ糖の誘導体である N-アセチルガラクトサミンの二糖単位の繰り返しからなる直鎖状の複合多糖で、後者の構成成分の 4 位または 6 位が硫酸化されたもの。4 位が硫酸化されたものをコンドロイチン硫酸 A、6 位が硫酸化されたものをコンドロイチン硫酸 C と呼ぶ。Fig.3.2 にコンドロイチン硫酸 C の構造式を示す。硫酸基、カルボキシル基の存在により高い負電荷をもつため水溶液は酸性を示す。通常分子量は 2 万～5 万である。生体中で最も豊富なグリコサミノグリカンであり、骨格組織、柔組織の両方に存在する。また、ナトリウム塩の形で医療用医薬品として用いられている。本研究ではコンドロイチン硫酸 C ナトリウム [ナカライテスク (株)、分子量 2 万～5 万] の試薬を用いた。

(b) ポリエチレングリコール (Polyethylene glycol)

略称 PEG。エチレングリコールの重合体。飽和炭化水素の直鎖炭素鎖であり、両末端に水酸基を有したポリエーテルである。官能基に水酸基、アルコキシ基を有する。Fig.3.3 (a) に PEG の構造式を示す。エチレンオキシドのアルカリによるアニオン重合、プロトン開始によるカチオン重合により合成される。分子量 200～400 のものは液体、1000 以上のものは固体である。低分子量のものは吸湿性および親水性が大きく水溶性であり、高分子量のもの

の水溶性である。脂肪族炭化水素に不溶、芳香族炭化水素に可溶。親水性と親油性を備えているので非イオン性界面活性剤として使用することができ、化粧品乳化剤や中性洗剤などに用いられている。本研究では、通常の PEG を使用した場合、脱水縮合した際に両末端の水酸基が反応を起こし糖鎖どうしが PEG を介して架橋し難溶性となる恐れがあるため片側末端がメチル基に置換された PEG メチルエーテルを用いた。また、試薬はシグマアルドリッチの分子量 550, 2000 の二種類を用いた。Fig.3.3 (b) に PEG メチルエーテルの構造式を示す。

(c) ジシクロヘキシルカルボジイミド (*N, N'*-Dicyclohexylcarbodiimide)

略称 DCC. $C_{13}H_{22}N_2$, 式量 206.33. エステル, ペプチド, カルボン酸無水物, ラクトンなどの合成における脱水縮合試薬として広く用いられている。反応の過程で有機溶媒に不溶な *N, N'*-ジシクロヘキシル尿素を副生する。エタノール中でシクロヘキシルアミンに二硫化炭素と水酸化ナトリウムを反応させ、生じた *N, N'*-ジシクロヘキシルチオ尿素を二硫化炭素中で酸化水銀と振り混ぜ、酸化させて合成する。結晶性固体であり、有機溶媒に可溶で水には不溶。融点 $35\sim 36^{\circ}C$, 沸点 $154\sim 156^{\circ}C$ 。人によっては皮膚や粘膜につくと激しい炎症を起こすことがある。本研究ではナカライテスク (株) の特級試薬を用いた。Fig.3.4 に DCC の構造式を示す。

(d) 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (1-hydroxybenzotriazole)

略称 HOBt. $C_6H_5N_3O$, 式量 135.13. DCC を用いた縮合反応の際に併用することでその反応活性を高める活性剤の役割を担う。O-クロロニトロベンゼンに抱水ヒドラジンを作用させて合成する。融点 $157^{\circ}C$, 有機溶媒によく溶け、水にも可溶。無水の HOBt は爆発性があり融点近くまで加熱すると強い爆発を起こすことがある。本研究では東京化成工業 (株) の 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール-水和物を用いた。Fig.3.5 に HOBt の構造式を示す。

(e) *N,N*-ジメチルホルムアミド (*N,N*-dimethylformamide)

略称 DMF. C_3H_7NO , 式量 73.10. わずかに粘性のある無色液体。わずかにアミン臭をもつ。高極性 ($\mu=3.86D$), 高誘電率 ($\epsilon=36.71$) の非プロトン性溶媒として用いられる。水, 有機溶媒と混和可能で、有機, 無機の各種化合物に対して広い溶解性を示し、気体の良溶媒である。ジメチルアミンとギ酸との反応によって得られる。融点 $-61^{\circ}C$, 沸点 $153^{\circ}C$ 。皮膚, 目, 粘膜を刺激し、長期間の吸入により肝障害を起こすことが動物実験で認められる。本研究ではナカライテスク (株) の一級試薬を用いた。



Fig.3.1 (a) Esterification reaction

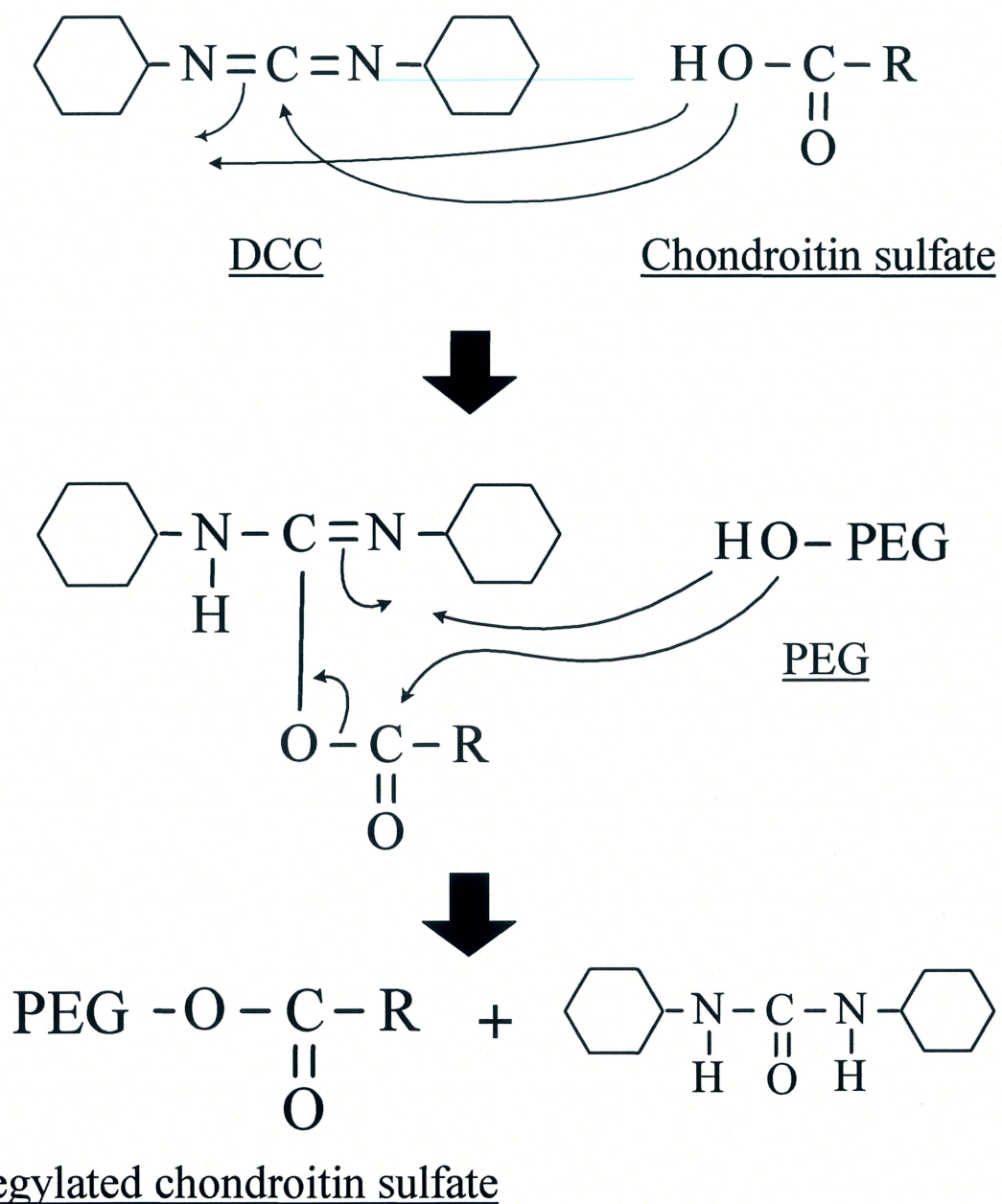


Fig.3.1 (b) Generative mechanism of pegylated chondroitin sulfate

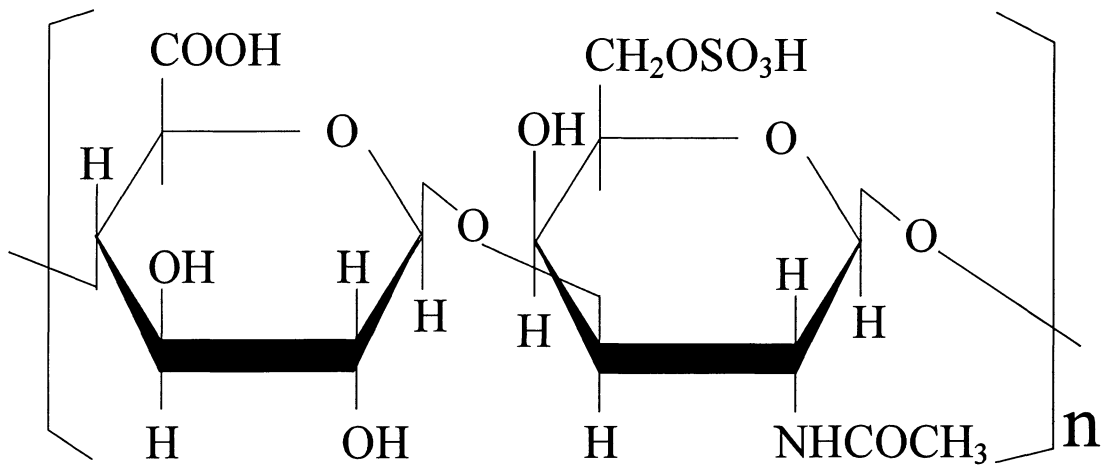
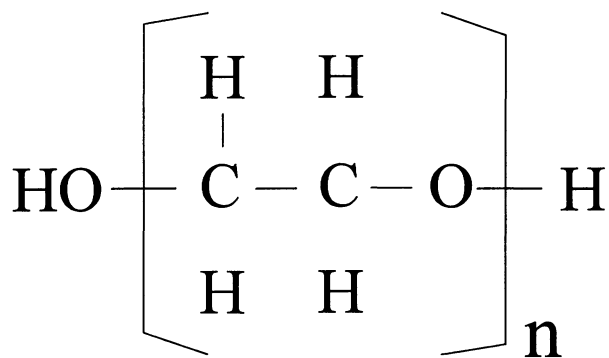
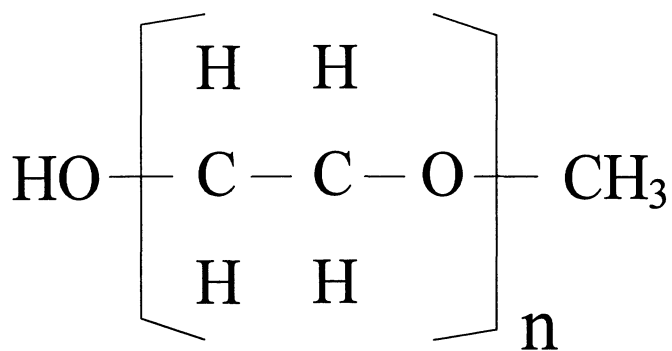


Fig.3.2 Chondroitin sulfate



(a)



(b)

Fig.3.3 (a) Polyethylene glycol (b) Polyethylene glycol methyl ether

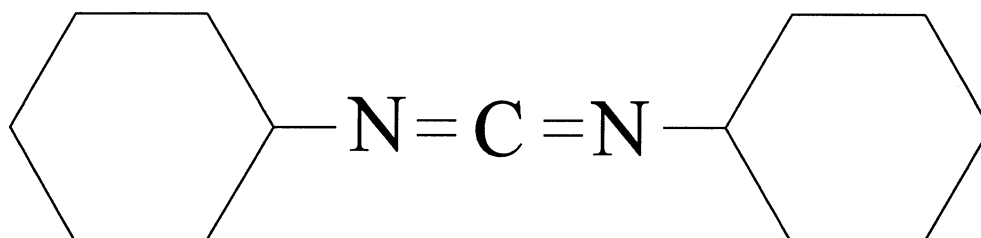


Fig.3.4 *N, N'*-Dicyclohexylcarbodiimide

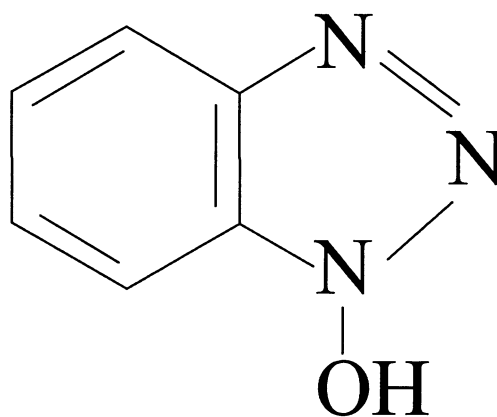


Fig.3.5 1-hydroxybenzotriazole

3.1.2 糖被膜型磁性流体

PEG 化コンドロイチン硫酸を分散剤に用いた糖被膜型磁性流体を作製するにあたり、磁気特性を決定づける磁性微粒子にはマグヘマイト ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) を用いた。マグヘマイトは酸化鉄の一種であり磁気特性にも優れ安価であるため磁気記録媒体や磁性流体など幅広く利用されている。また、生体に対しても比較的安全とされているため医療分野でも利用されている。結晶構造はスピネルフェライトと呼ばれる構造を持ち、磁性はフェリ磁性となる。試料作製方法には共沈法を応用した化学合成を用いた。共沈法は、金属塩溶液から微粒子を生成させる方法の一つで、組成の制御が容易であり、化学的均一性と反応性の高い微粒子が得られる。また、大規模な実験装置を必要とせず比較的簡素な方法で合成を行うことが可能であり、短時間に大量生産が可能であることが挙げられる。また、この合成プロセスは微粒子をナノオーダーの粒径に制御して形成することができる。以下にスピネルフェライト、マグヘマイト微粒子の生成に用いた金属塩化物について述べる。

a) スピネルフェライト

スピネルフェライトはフェライトの一種である。フェライトの組成は $\text{M}^{2+}\text{O}-\text{Fe}_2\text{O}_3$ または $\text{M}^{2+}-\text{Fe}_2\text{O}_4$ の一般式で表され、その結晶構造はスピネル型の立方晶系に属する、 M^{2+} には Fe の他に Mn, Co, Ni, Cu, Mg, Zn, Cd, などがある。スピネル型構造の単位胞は 8 分子より成っている。すなわち上記の一般式の 8 倍の個数である 32 個の O^{2-} が面心立方最密充填構造を作り、8 個の M^{2+} と 16 個の Fe^{3+} は O^{2-} の間隙に入っている。これは O^{2-} のイオン半径が約 0.8\AA であり、 O^{2-} の方が大きいためである。Fig.3.6 にフェライトのスピネル型構造の単位胞を示す。

M^{2+} が Zn^{2+} または Cd^{2+} の時、 M^{2+} は 4 個の酸素に囲まれた格子点位置(A 位置)を占め、 Fe^{3+} は 6 個の酸素で囲まれた格子点位置(B 位置)を占める。このような金属イオン分布のフェライトを正スピネル型のフェライトと呼ぶ。

M^{2+} が Mn^{2+} , Fe^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Cu^{2+} , Mg^{2+} , などの場合には、 M^{2+} は B 位置を占め、 Fe^{3+} の半数は B 位置を、残りの半数の Fe^{3+} は A 位置を占める。このようなフェライトを逆スピネル型のフェライトと呼ぶ。

スピネル型フェライトのうちで強磁性を示すのは逆スピネル型で、正スピネル型は常磁性を示す。逆スピネル型フェライトでは、A 位置を占める金属イオンと B 位置を占める金属イオンとの相互間に最も強力な超交換相互作用が働く。すなわち A, B 位置に存在する金

属イオンの磁気モーメントを $\overline{\text{Fe}}^{3+} \left[\overline{\text{M}}^{2+} - \overline{\text{Fe}}^{3+} \right]$ のように互いに反平行に結合する作用であり、その結果両位置にある Fe^{3+} の磁気モーメントは打ち消され、B 位置に残存する M^{2+} だけが差し引きの自発磁化として現れる。これをフェリ磁性(ferrimagnetism)と呼ぶ。正スピネル型フェライトでは A 位置を非磁性体が占めるため、AB 間の超交換相互作用は存在せず、

B 位置の 2 個の Fe^{3+} は $\text{M}^{2+} \left[\overrightarrow{\text{Fe}^{3+}} - \overleftarrow{\text{Fe}^{3+}} \right]$ のように互いに反強磁性結合をするため、磁気モーメントは完全に相殺されて自発磁化を示さない⁹⁾。

b) 第一塩化鉄 (FeCl_2 : ferric chloride)

式量 126.75. 無水物のほかに一、二、四、六水和物も知られている。無水物は、鉄を乾燥塩化水素中で赤熱するか、水和物を塩化水素中で脱水すると得られる。淡緑色の六方晶結晶 (塩化カドミウム型構造)。密度 2.99g/cm^3 屈折率 1.567. 融点 674°C . 水, エタノールに易溶, アセトンに可溶, エーテルに不溶. 湿った空気中では色が変わり, 最後には赤褐色となる. 水 100g に 10°C で 64.4g, 100°C で 105.7g 溶ける. 鉄, 水酸化鉄あるいは炭酸鉄 (□) などを空気を断って塩酸に溶かすと水和物が得られる. ふつうには四水和物 $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ がえられ, これは淡緑色の単斜晶系晶で, 密度は, 1.926g/cm^3 で潮解性がある. エタノールに可溶. 水 100g に 10□ で 37.6g, 70□ で 45g 溶ける.

c) 第二塩化鉄 (FeCl_3 : ferrous chloride)

式量 162.21. 無水物のほかに水和物 $\text{FeCl}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ ($n=12, 2.5, 5.3, 5.6$) も知られている。無水物は、鉄粉を塩素気流中で熱するか、酸化鉄 (□) を塩化水素, 塩化カルボニル, あるいは四塩化炭素などの中で熱すると得られる。また、水和物を濃硫酸上で脱水してもよい。透過光で紫赤色, 反射光では暗緑色の六方晶系晶 (ヨウ化ビスマス (□) 型構造)。密度 2.804g/cm^3 (11□). 融点 300°C , 沸点 317°C . 溶液は, 赤色, 液体は赤色, 気体は黄褐色。気体は $322 \sim 448^\circ\text{C}$ で Fe_2Cl_6 分子からなる。 Fe_2Cl_6 は四面体 Fe_2Cl_4 の稜共有の複核錯体. 750°C 以上では Fe_2Cl_3 となる。エタノール, エーテル, アセトンに易溶. 有機溶媒中では単量体として存在する。水 100g に 74.4g (0□), 535.8g (100□) 溶ける。酸化鉄 (□) または水和酸化鉄 (□) を塩酸に溶かした溶液に塩化水素を飽和させると六水和物 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ が得られる。六水和物は黄褐色の斜方晶系柱状晶または単斜晶系板状晶。潮解性。融点 36.5°C , 沸点 280°C . 構造は $\text{trans}-[\text{FeCl}_2(\text{H}_2\text{O})_4] \cdot \text{Cl} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. 水 100g に 246g (0□) 溶ける。水溶液は強酸性でタンパク質凝固作用がある。その他の水和物として, $\text{FeCl}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 赤色, 融点 73.5°C . $\text{FeCl}_3 \cdot 2.5\text{H}_2\text{O}$: 暗赤褐色, 融点 56°C . $\text{FeCl}_3 \cdot 3.5\text{H}_2\text{O}$: 暗褐色の単斜晶系晶, 融点 32.5°C . 有機反応での酸化剤 (無水物), 写真製版などでの金属腐食剤, 媒染剤, 止血剤などに用いられる。

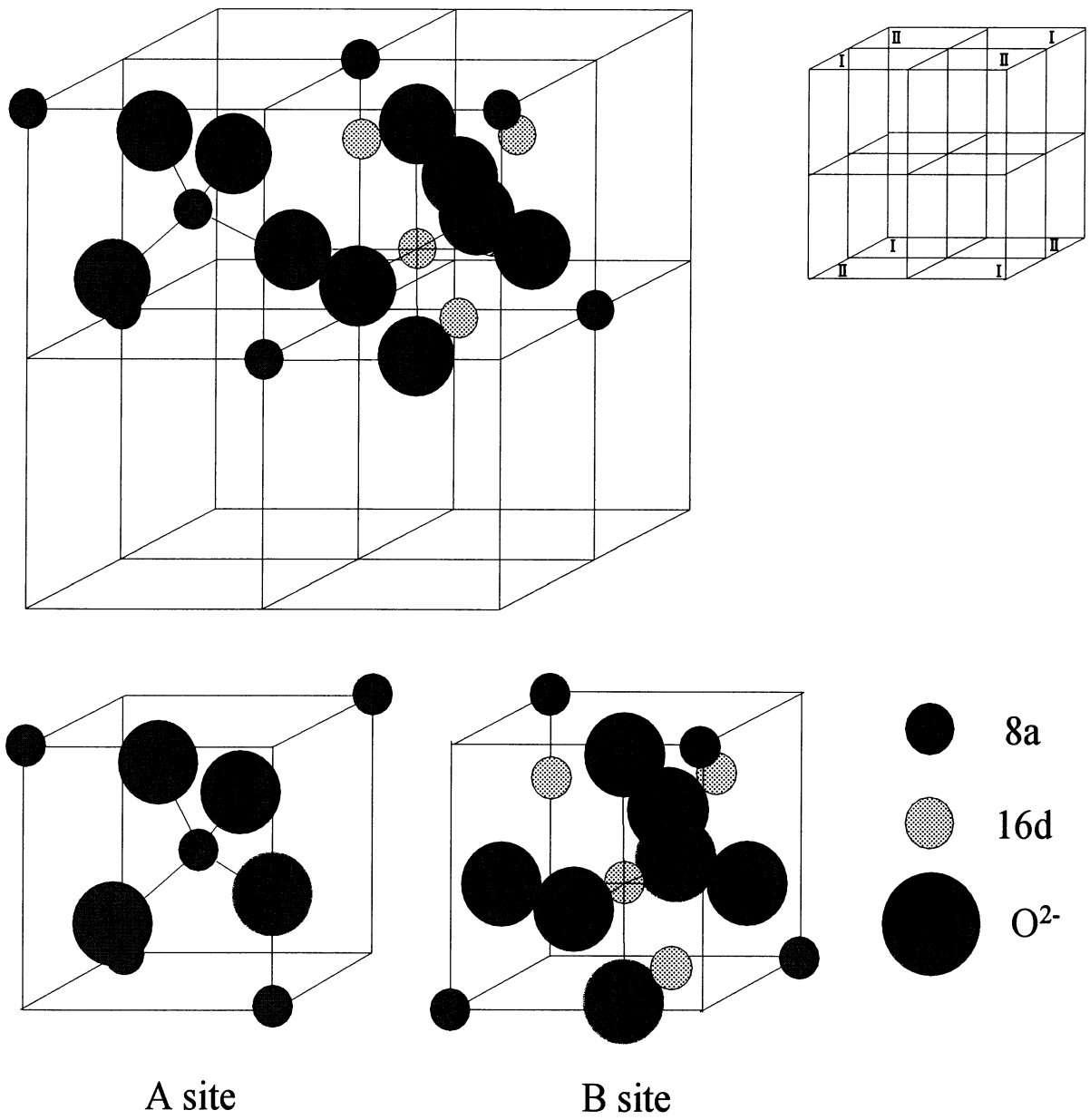


Fig.3.6 Structure of spinel ferrite

3.2 試料作製

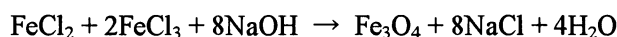
3.2.1 PEG 化コンドロイチン硫酸

以下に PEG 化コンドロイチン硫酸の具体的な試料作製工程を示す。また、Fig.3.7 にフローチャートを示す。

- 1) コンドロイチン硫酸中のカルボキシル基と PEG メチルエーテルが同等モルになるよう両者を秤量し、溶媒である DMF に溶かす。
- 2) (1)で作製した溶液にイオン交換樹脂（シグマアルドリッチ，DOWEX HCR-W2）を加える。これは市販されているコンドロイチン硫酸がナトリウム塩になっており、このナトリウムを取り除くためである。
- 3) 反応活性剤である HOBt と脱水縮合剤である DCC を加え、室温にて 24[h] 攪拌する。
- 4) 溶液を酢酸エチルで吸引ろ過し、未反応の DCC や HOBt，溶媒を除去する。
- 5) ろ物を蒸留水に溶かし再度吸引ろ過を行いイオン交換樹脂などの不純物を除去する。
- 6) その後、ろ液を凍結乾燥し試料とする。

3.2.2 糖被膜型磁性流体

以下に、本研究における共沈法の化学反応式を示す。



上記の反応式では 2 つの式に分割されているが、マグネタイト微粒子の生成と糖類の吸着は同時に行われている。この際の溶液温度、鉄塩濃度、アルカリの中和過剰量、反応時間により、コロイドサイズをコントロールすることができる。

以下に糖被膜型磁性流体の具体的な作製工程を示す。またフローチャートを Fig.3.8 に、合成装置を Fig.3.9 に示す。

1) 金属塩溶液の作製

FeCl_2 、 FeCl_3 を Fe^{2+} 、 Fe^{3+} の比率が 1:2、合計が 0.14 [mol/l] となるよう秤量し、酸化防止のために Ar ガスを通付加した蒸留水に溶かす。これにより、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} の金属塩混合溶液を得る。

2) 糖溶液の作製

PEG 化コンドロイチン硫酸を 0.02 [kg/l] となるよう秤量し、金属塩と同様に酸化防止のための Ar ガスを通付加した蒸留水に溶かす。これにより糖溶液を得る。

3) 沈殿剤添加

(2)で作製した糖溶液に沈殿剤として 3 規定の NaOH を 0.02 [l] 加える。

4) 合成及び還流加熱

(1)で作製した金属塩混合溶液と(3)で作製した糖溶液をサーモマグネスター

(Thermo magnetir : MGH-110, SHIBATA 社製)を用いて攪拌しながら 348 [K]に達するまで加熱する。348 [K]に達した後に糖溶液を金属塩混合溶液に加え、pH を調整するため NaOH を適量滴下する。その後、30 分間還流加熱し、反応を進ませ、糖被膜型磁性流体を得る。

5) 遠心分離

得られた磁性流体を遠心機(Centrifuge-5010, KUBOTA 社製) (Fig.3.10) にて 3000 [rpm]で 15 分間遠心分離を行い粗大粒子を除去する。

6) 透析

その後、透析膜(Seamless cellulose tubing : UC-36-32-100, VISKASE 社製)を用いて透析を行う。なお、透析は透析膜外の溶液 (蒸留水) を繰り返し交換し磁性流体の pH が蒸留水と同等になるまで行う。

7) 凍結乾燥

磁気測定や X 線回折用に試料を粉末状にする必要がある。溶液を液体窒素に浸けて凍結し、凍結乾燥装置(FZ-1(77400)型, ラブコンコ(株)製)を用いて試料を粉末状にする。

凍結乾燥とは水溶液及び水分を含む物質を急速に氷点下の温度で凍結させ、その凍結物の水蒸気圧以下に減圧して水を昇華させて除去し、物質を乾燥させる方法である。凍結の際に急冷することで結晶は微細になる。特に生体試料の乾燥には適しており、凍結乾燥された試料は、形態的・機能的にもその生体試料が本来持っている性質をできるだけ失わずに保存できる利点がある。Fig.3.11 に水溶液の圧力-温度状態図, Fig.3.12 に凍結乾燥法の概念図, Fig.3.13 に凍結乾燥装置を載せる。

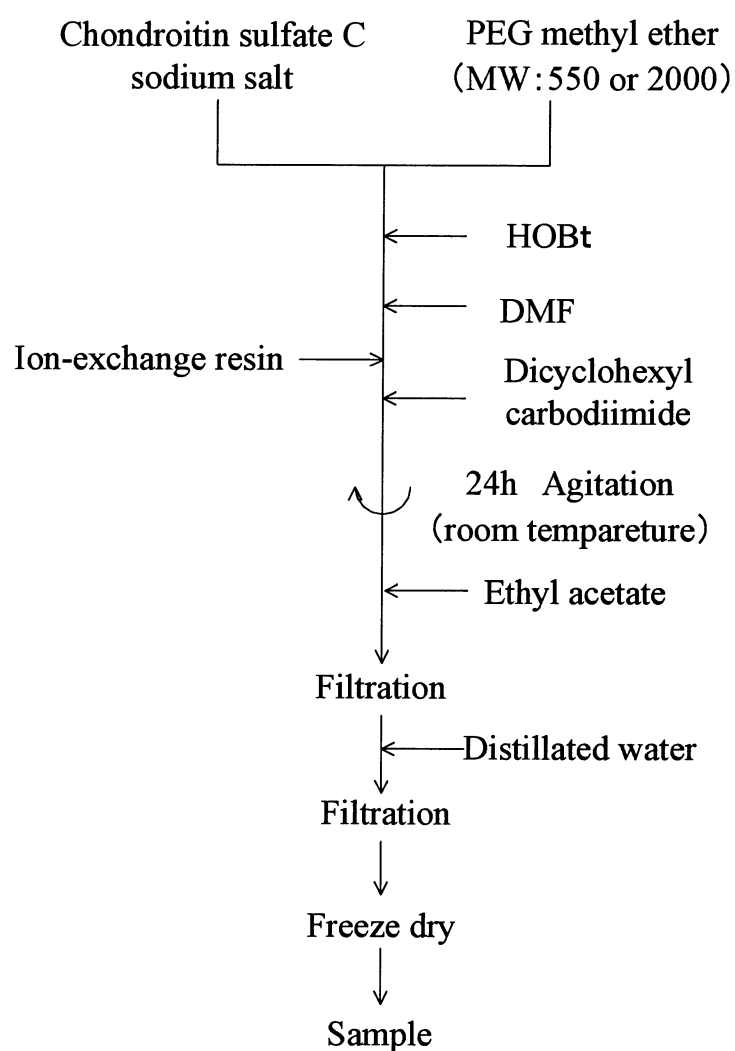


Fig.3.7 Synthesis process of pegylated chondroitin sulfate

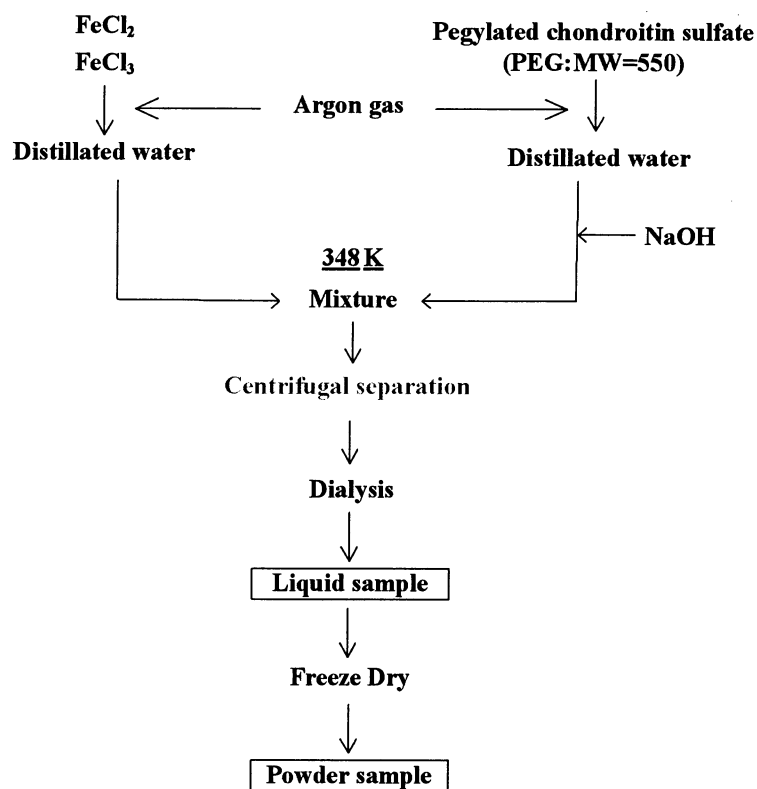


Fig.3.8 Synthesis process of magnetic particle coated with saccharide

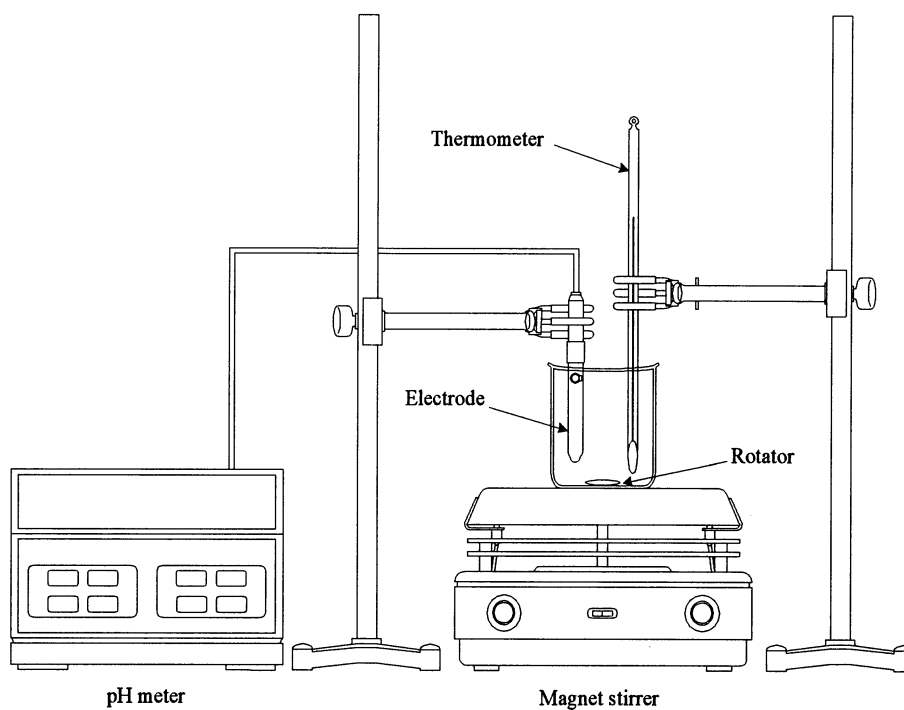


Fig.3.9 Synthesis device of magnetic particle coated with saccharide

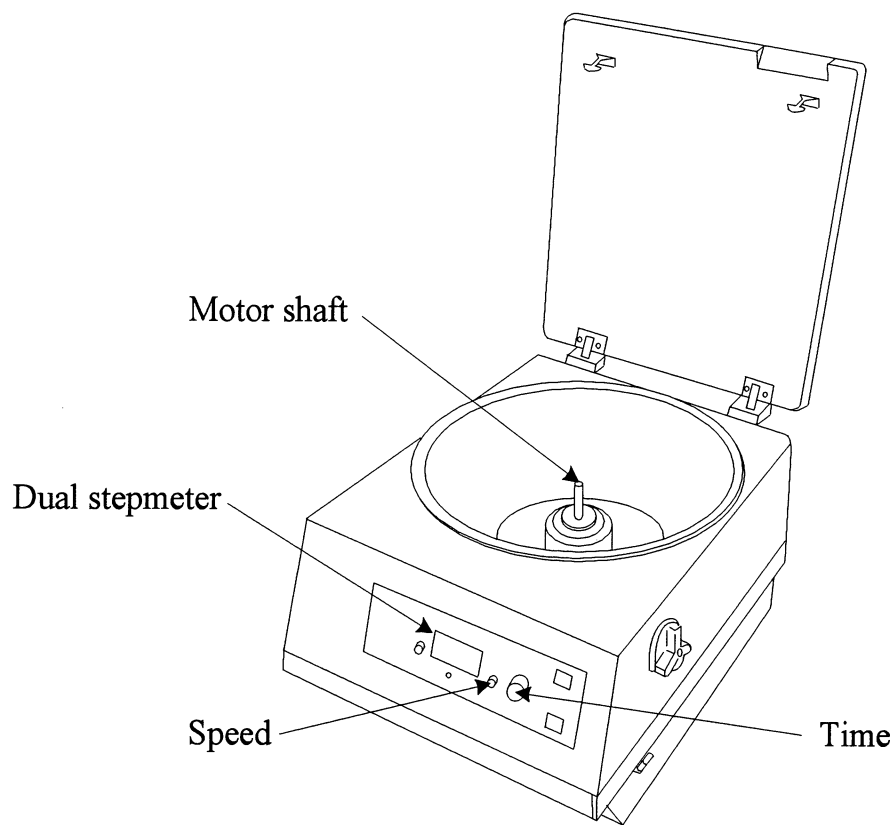


Fig.3.10 Centrifuge separator

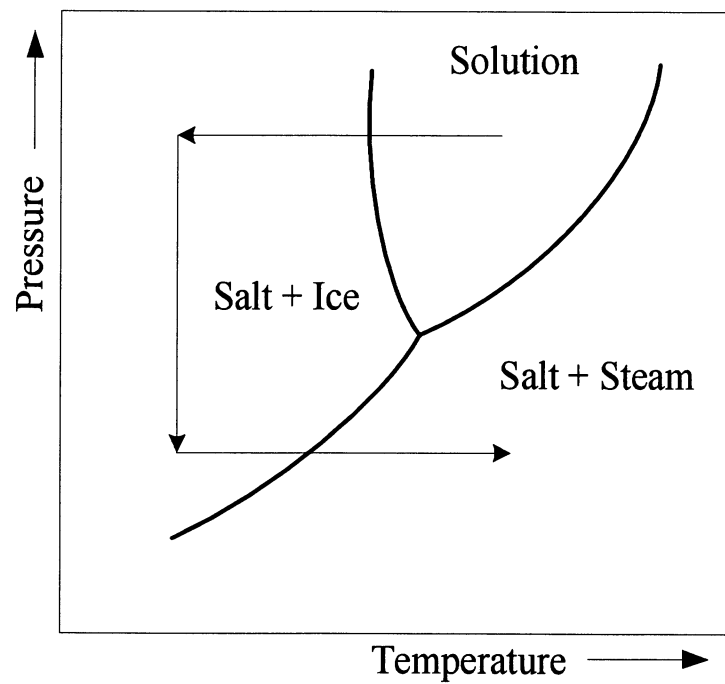


Fig3.11 pressure - temperature diagram of aqueous solution

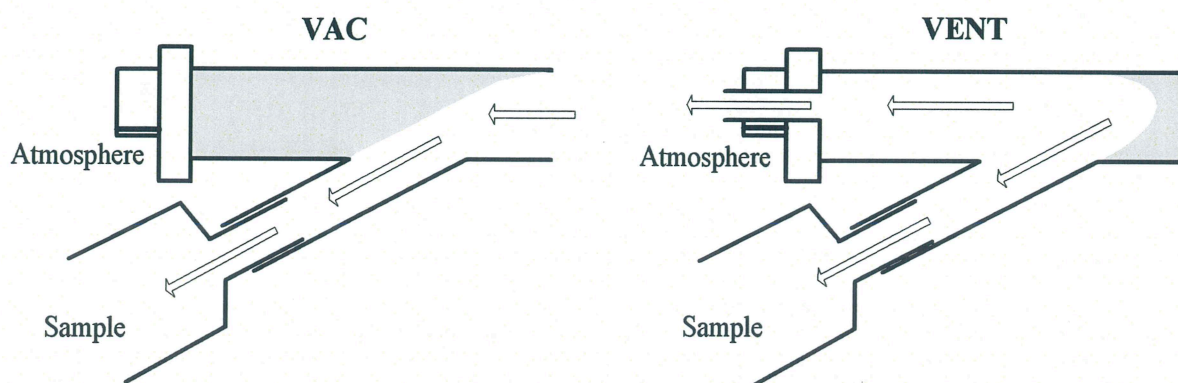


Fig3.12 Conceptual diagram of freeze-drying



Fig.3.13 Freeze drier

3.3 糖被膜型磁性流体における合成条件の設定

過去の研究において糖被膜型磁性流体では作製条件を種々変化させるとその特性も種々変化することが判明している. 中でも顕著に影響を及ぼすのが合成時の pH 雰囲気である¹⁰⁾.

この要因の一つに溶液 pH 環境の変化に伴う微粒子の組成の変化が挙げられる. マグヘマイトと類似したマグネタイト $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ 微粒子において, 塩化鉄 (II), 塩化鉄 (III) を用いた場合には, 強アルカリによって $\text{Fe}(\text{OH})_2$, $\text{Fe}(\text{OH})_3$ とした段階で, $\text{Fe}(\text{OH})_2$, $\text{Fe}(\text{OH})_3$ が徐々に酸化されて $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$ (マグネタイト) が生じる. このときの酸化反応の条件により, 化学組成や結晶構造が異なる(Fig3.14)¹¹⁾. そのため, マグヘマイト微粒子の合成に関しても合成時の pH 雰囲気によって微粒子の組成や結晶構造に違いが生じ, 特性も変化する可能性がある.

もう一つの要因として分散剤の糖が有する官能基の影響が挙げられる. 糖を被膜した場合, 糖が有する官能基が変化すると合成時の pH 雰囲気による飽和磁化値や, 分散状態の変化に違いが生じることが判明している¹⁰⁾. 本研究で作製する糖被膜型磁性流体では, 分散剤に PEG 化コンドロイチン硫酸を用いていることから通常のコンドロイチン硫酸を用いたものと比べ合成時の pH 雰囲気に対する影響が変化している可能性がある.

そこで, 本実験では合成時の pH 雰囲気を種々変化させた試料を作製し特性の変化を調査した. 合成時の pH 雰囲気の調整は糖溶液と金属塩溶液を混合した後の NaOH 滴下量を調整して行った.

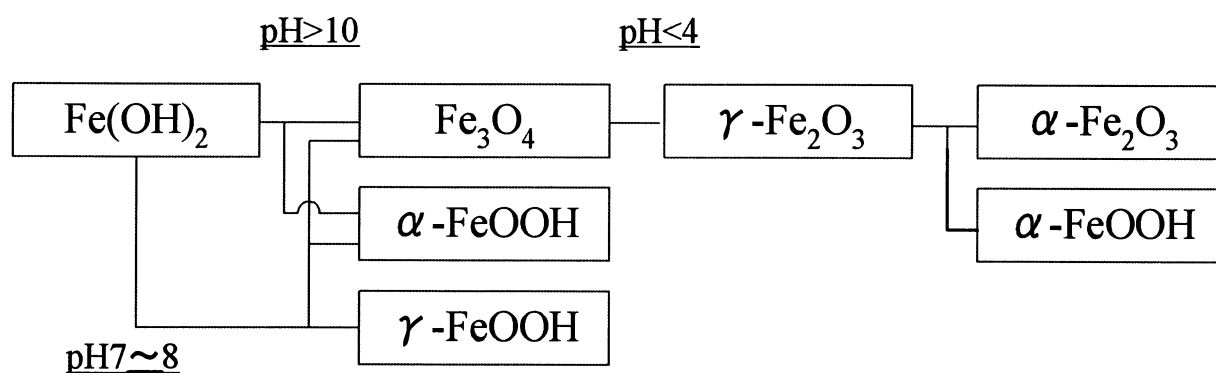


Fig.3.14 Variation of iron hydroxide

4. 評価方法

4.1 PEG 化コンドロイチン硫酸

核磁気共鳴分光法（以下 NMR）および赤外分光法（Infrared spectroscopy, 以下 IR）を用いて得られた試料の解析を行い化学構造の推定を行った。

4.1.1 核磁気共鳴分光法（NMR）

核磁気共鳴装置（JMN-EX270 型，日本電子製）（Fig.4.1）を用いて試料の解析を行った。

NMR は静磁場中に晒された試料中の磁性を持つ原子核が，特定の高周波を吸収し共鳴を起こす現象を利用する．吸収ピークの周波数をピークの強度に対してプロットすると NMR スペクトルが得られる．そして，分子中の核は化学的環境によって密度が変化する電子雲によって非常にわずかではあるが遮蔽されており，この遮蔽によって原子核の間に違いが生じるため吸収できる高周波の周波数は原子核により異なる．よって，この NMR スペクトルを解析することで化学構造の同定が可能となる．その為，NMR は有機化合物の同定において，中心的存在となる分析方法である．有機化合物の解析では水素の原子核すなわちプロトンが最もよく測定される．これは，プロトンが有機化合物には概ね含まれており，環境の異なるものも多いためである．

NMR スペクトルは縦軸にピーク強度をとり，横軸は化学シフトと呼ばれる値をとる．化学シフトとは，ある特定のプロトンの吸収位置と基準プロトンの吸収位置の差であり，共鳴周波数を外部から加えた周波数で除した値である．プロトン NMR では基準物質にテトラメチルシラン（Tetramethylsilane, 化学式: $\text{Si}(\text{CH}_3)_4$ ，以下 TMS）がよく用いられる．また，外部から加えた周波数に対して共鳴周波数はおよそ 10^6 のオーダーで小さいため化学シフトの単位は通常 ppm が用いられる．すなわち，外部から加えた周波数が 300[MHz]の場合 TMS のピークを 0[ppm]とし，共鳴周波数が TMS から 300[Hz]のところにあるピークは 1.00[ppm]となる．Fig.4.2 に装置の概念図を示す．

本研究では重水を溶媒に用い，270[MHz]の核磁気共鳴にてプロトンの測定を行った．

4.1.2 赤外分光法（IR）

フーリエ変換赤外分光光度計（FT/IR-4100, Jasco 製）（Fig.4.3）を用いて試料の解析を行った．

共有結合をもつほとんどの化合物は赤外光を吸収する．IR はこの赤外領域の光の吸収を測定することによって，分子の振動を観察し，有機化合物の分子構造を推定する手法である．物質を構成する分子中の原子団（官能基）は熱エネルギーによってたえず振動している．そのため，光が照射されると分子の他の部分の構造とは無関係に原子団の振動数と同一の振動

数、またはそれに近い振動数の吸収帯を生じる。これらの特性的な吸収帯の位置は不変であるので得られた赤外スペクトルを解析することで試料の構造を解析することができる。

IR スペクトルは縦軸に透過度を取り、横軸は振動数を cm^{-1} という波数で表す。測定領域は電熱線を赤外光源として $400[\text{cm}^{-1}]$ から $4000[\text{cm}^{-1}]$ の波数領域で測定可能である。

IR の測定では試料を薄くする必要があるが固体試料の場合は固体そのものの厚みを薄くすることができないので別の物質を加えて試料を薄めて測定を行う。測定法はいくつか存在するが本研究では KBr 錠剤法を用いた。KBr 錠剤法は試料と KBr 結晶を乳鉢で粉末化して混合し、金属製の型に入れて圧縮し、錠剤を形成して測定する方法である。Fig.4.4 に型および圧縮機を示す。また、Fig.4.5 に装置の模式図を示す。

4.2 糖被膜型磁性流体

本研究で用いた試料の磁気特性、結晶構造、コア粒子径およびコロイド粒子径は材料の作製条件により変化するものと考えられる。各測定を行うことにより、各試料の特性挙動について調べ、合成条件との関係を明らかにし、合成条件による材料特性制御を評価した。

4.2.1 磁気測定

測定装置は試料振動型磁力計(Vibrating Sample Magnetometer : VSM-5, 東英工業(株)製)(Fig.4.6 (a))を用いた。試料を一定の振動数で振動させることにより、試料の持つ磁気エネルギーが空間的に振動し、それが検出コイル内で磁気エネルギーに比例し、振動周波数と同一周波数の信号を誘起することを利用する。この装置は磁気エネルギーを直接測定するので、外磁場は試料を磁化するためのみに用いられるのであって、残留磁気も測定できる。そのほかにも、比較的丈夫で扱いやすいこと、試料を固定して異方的な性質をはかれること、強い磁性から弱い磁性まで電気的な回路の調節のみで数桁の範囲をカバーできること等、多くの特徴を有している。

測定の前準備として凍結乾燥で得られた粉末をシリンダー型のサンプル容器に隙間なく詰め込み、試料の質量を測定する。Ni 標準試料($M_s=5.0[\text{A} \cdot \text{m}^2/\text{kg}]$, 東英工業(株)製)を用いて装置の校正を行った後、室温中で試料の測定を行い、M-H 曲線を描く。最大印加磁場 $1080[\text{kA/m}]$ における試料の飽和磁化値を求め、あらかじめ求めておいた質量で除することにより、単位質量あたりの飽和磁化を得る。Fig.4.6 (b)に VSM の概念図を示す。

4.2.2 X 線回折解析による結晶構造の同定

試料水平型多目的 X 線回折装置(Ultima IV, Rigaku (株) 製 [Fig.4.7 (a)])を用いて本試料の定性分析を行った。測定に用いた試料は、凍結乾燥により得られた粉末試料及び標準試料として Fe_3O_4 、 Fe_2O_3 である。X 線回折装置は単結晶または粉末試料による単色 X 線の回折角を変えながら回折線の強度を計数管で測定し、強度と角度を自動的に記録する装置である。

封入管の X 線管を用い、スリットを組み合わせ、適当な開き角のビームをつくる。試料と計数管を連動するゴニオメーターが試料を Fig.4.7 (b)のように角運動： ω で回転すると同時に計数管を 2ω で回転し、その回転軸と平行な線焦点を用いて、回折線を計数管の直前で集める。これらの回折ピークからコア粒子の組成を定性的に求めることができる。試料水平型は試料を水平に設置して測定を行うことができ、従来の装置では測定が困難な試料も測定可能である。

4.2.3 コア粒子観察

4.2.3.1 観察装置

共沈法により作製した試料を電子顕微鏡観察し、その直径を求める。測定には透過型電子顕微鏡(Transmission Electron Microscope : TEM-H-500H 日立(株)製)(Fig.4.8 (a))を用いた。電子顕微鏡用試料として試料溶液にフォルムバル膜張り銅メッシュを浸漬後、乾燥したものをを用いた。ゾルや沈殿などの粒子懸濁液を顕微鏡観察するときは、支持膜を張ったメッシュ上によく攪拌した試料懸濁液を一滴乗せて乾燥する。そのときに予め減圧濃縮により適当な粒子濃度にしておく必要がある。また、粒子同士の凝集を防ぐために超音波振動装置による分散を行うほか、乾燥時における凝集を防ぐために凍結乾燥することもある。Fig.4.8.(b)に TEM の構造を示す。

4.2.3.2 粒子径測定方法

透過型電子顕微鏡より得られた画像から Fig.4.9 のように各微粒子の粒子径を測定し、次式のように平均粒子径を算出した⁽⁷⁾。 $n \approx 400$ とした。

$$d_i = \frac{a_i + b_i}{2} \quad \left(\begin{array}{l} a: \text{長軸径} \\ b: \text{短軸径} \end{array} \right)$$

$$\text{平均粒子径} \quad \bar{d} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n d_i$$

4.2.4 コロイド粒子径

試料は酸化鉄微粒子と糖類の複合材料であり、糖を含むコロイドの粒子径を動的光散乱測定により求めた。測定装置は動的光散乱光度計(DLS)[DLS-700, 大塚電子(株)製] (Fig.)を用い、キュムラント法解析¹¹⁾により平均粒子径を算出した。



Fig.4.1 NMR (JMN-EX270)

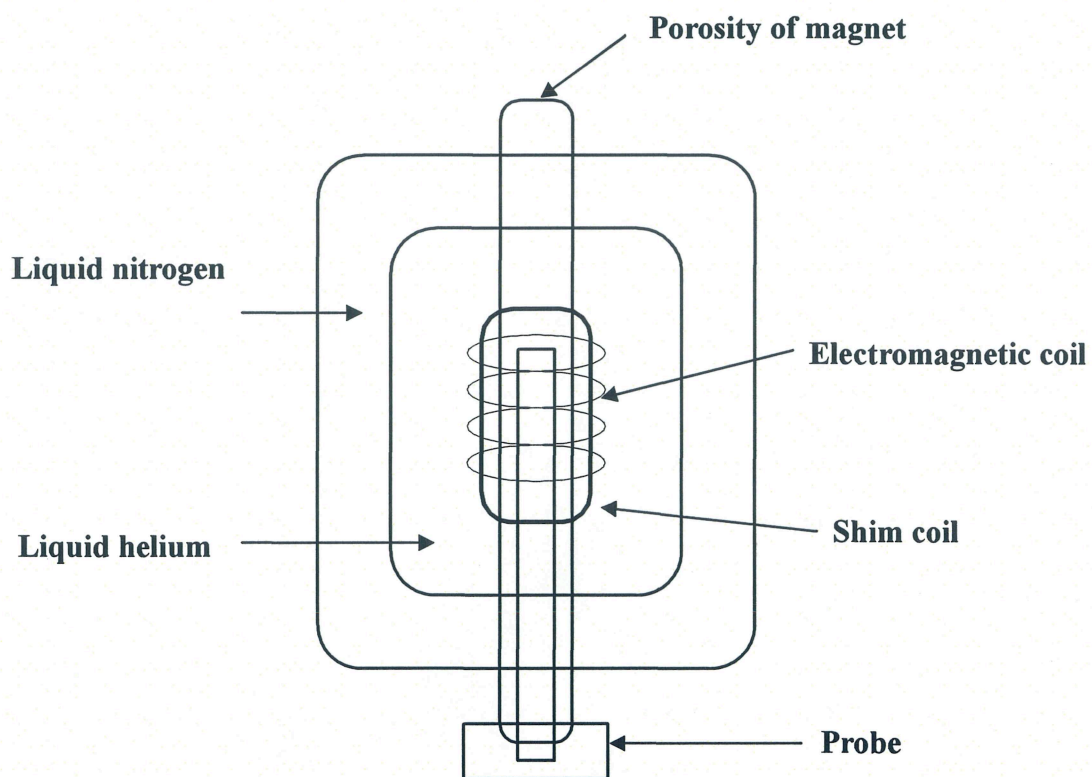
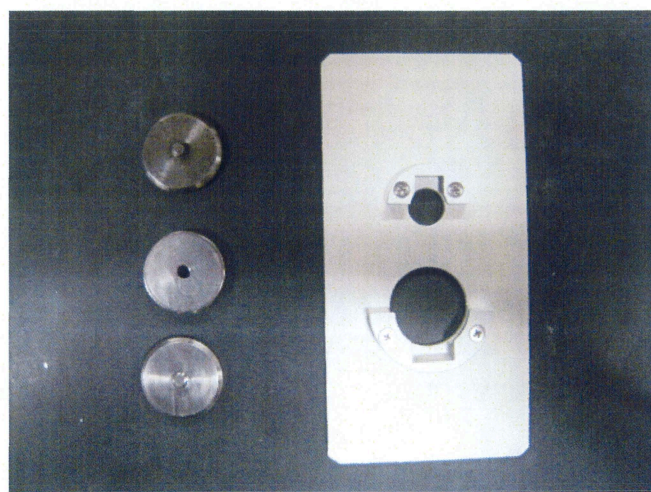


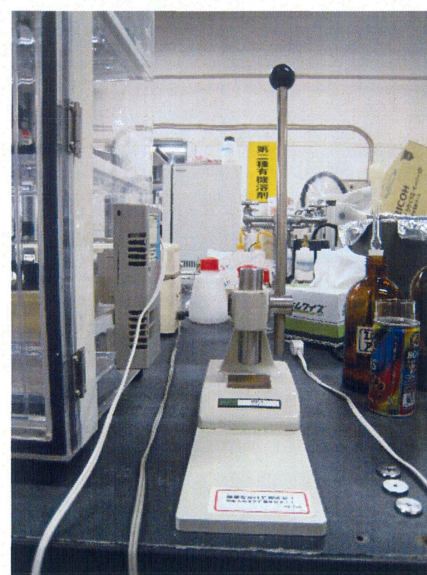
Fig.4.2 Conceptual diagram of NMR



Fig.4.3 IR (FT/IR-4100)



(a)



(b)

Fig.4.4 (a) Mold of making pellet (b) Compactor

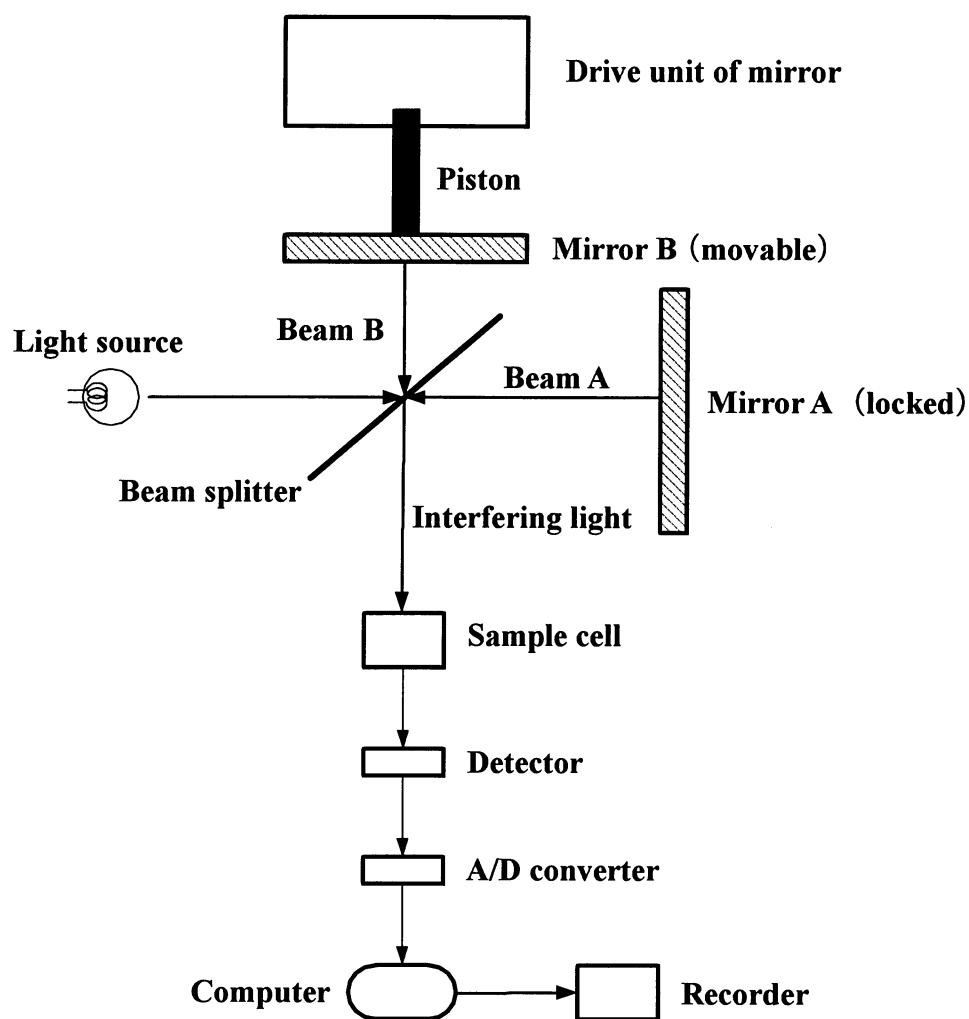


Fig.4.5 Conceptual diagram of IR



Fig.4.6 (a) VSM(VSM-5)

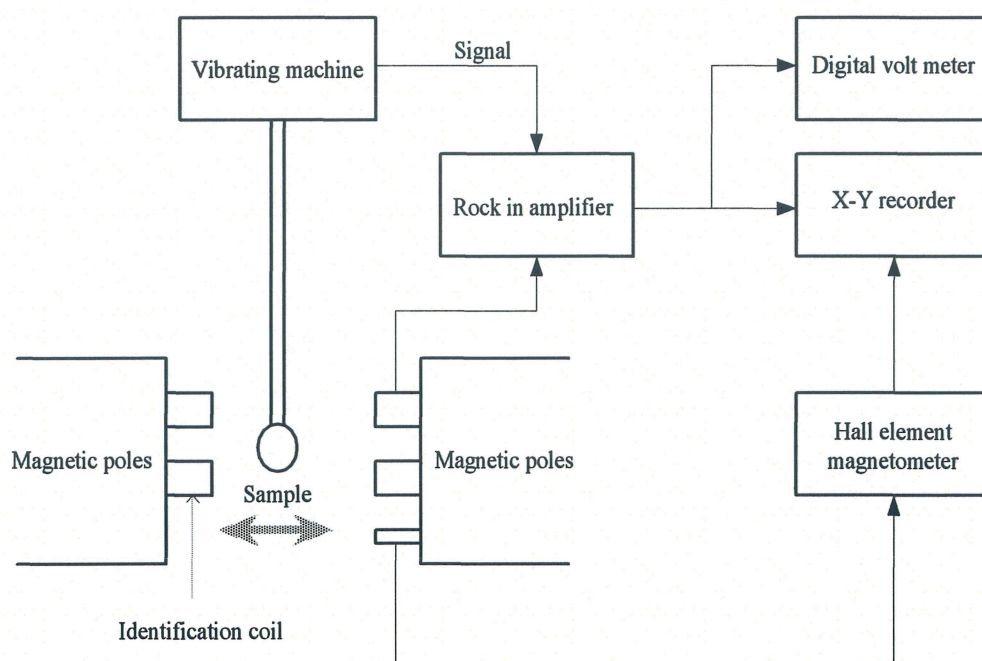


Fig.4.6 (b) Conceptual diagram of VSM



• Fig.4.7 (a) Powder X-ray diffractometer

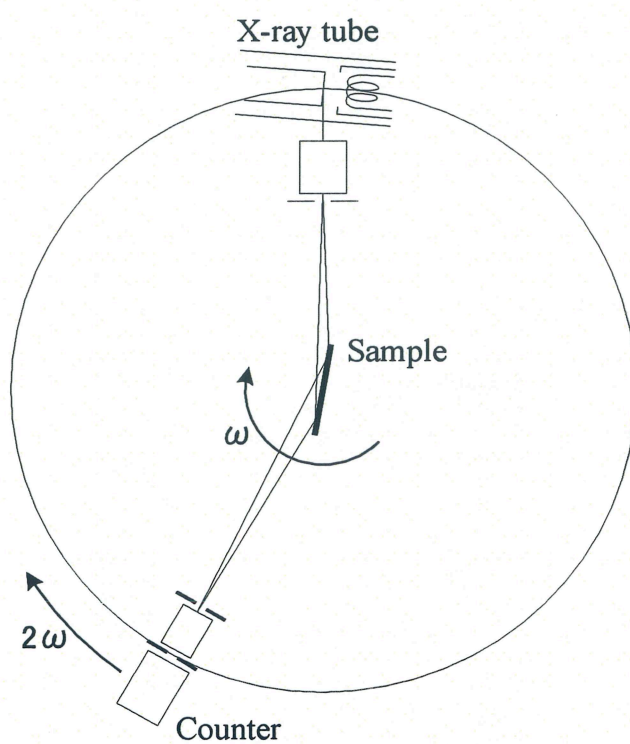


Fig.4.7 (b) Diffraction of X-ray



Fig.4.8.(a) TEM (H-500)

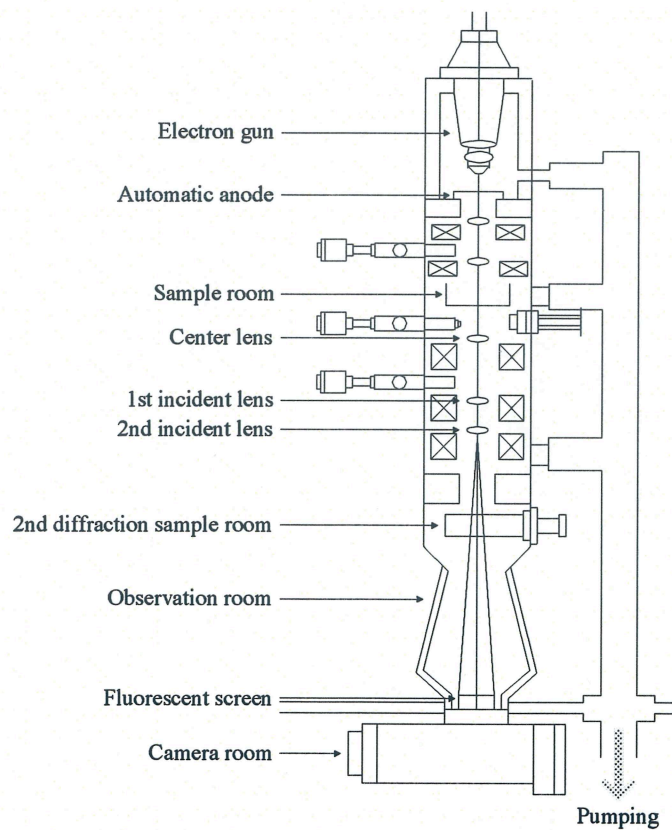


Fig.4.8 (b) Conceptual diagram of TEM

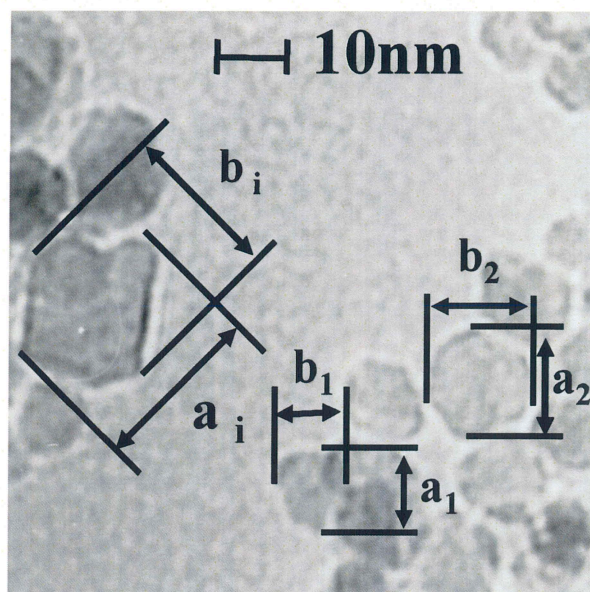


Fig.4.9 Measure of particle diameter



Fig.4.10 DLS (DLS-700)

5. 結果

5.1 PEG 化コンドロイチン硫酸の合成

コンドロイチン硫酸, PEG メチルエーテルおよび合成にて得られた試料の解析を NMR 分析にて行った. コンドロイチン硫酸, PEG メチルエーテルの NMR スペクトルと試料の NMR スペクトルとの比較を行い試料中に含まれる物質の同定を行った. Fig.5.1~5.5 にコンドロイチン硫酸, PEG メチルエーテルおよび試料の NMR スペクトルを示す. これらの NMR スペクトルは縦軸がピーク強度を表し, 横軸は化学シフトを表す. 化学シフトとは 4.1.1 節で述べたとおり測定試料中のプロトンの吸収位置と基準物質のプロトンの吸収位置との差である. 吸収が起こりスペクトルにピークが現れる化学シフトの値は物質固有の値をとる.

Fig.5.1 にコンドロイチン硫酸の ^1H NMR スペクトルを示す. Fig.5.1 より $\delta=1.90$ [ppm]付近に鋭いピークが現れ, $\delta=3.20\sim 4.4$ [ppm]にいくつかのピークが現れていることが分かる. 一般にグリコサミノグリカン (ムコ多糖) では $\delta=1.90\sim 2.10$ [ppm]にアセチル基のピークが現れる. そのため, $\delta=1.90$ [ppm]付近の鋭いピークはコンドロイチン硫酸の繰り返し単位を構成している N-アセチルガラクトサミン中のアセチル基のピークである. また, $\delta=3.20\sim 4.4$ [ppm]のピークは N-アセチルガラクトサミンおよび, 同じくコンドロイチン硫酸を構成している D-グルクロン酸中のメチン基, メチレン基のピークである¹³⁾. これら 2 種類のピークがコンドロイチン硫酸の特徴を表したピークになる. なお, $\delta=4.6$ [ppm]付近の高いピークは溶媒中の残留プロトンによるピークであるためコンドロイチン硫酸に関するピークではない.

Fig.5.2, Fig.5.3 に分子量 550 および 2000 の PEG メチルエーテルの ^1H NMR スペクトルを示す. 両者とも $\delta=3.70$ [ppm]付近と $\delta=4.70$ [ppm]付近にピークが現れていることが分かる. 分子量 550 のスペクトルでは $\delta=3.70$ [ppm]付近のピークと $\delta=4.70$ [ppm]付近のピークが現すプロトンの量比を積分値から算出した結果, 繰り返し単位中のメチレン基の数と末端のメチル基の数にほぼ等しくなったため, $\delta=3.70$ [ppm]付近のピークはメチレン基のピークであり, $\delta=4.70$ [ppm]付近のピークは末端のメチル基のピークであると推測される. 分子量 2000 のスペクトルでも同様の結果となり, $\delta=3.70$ [ppm], $\delta=4.70$ [ppm]のピークが現す官能基は分子量 550 のものと同様であると思われる. これら 2 種類のピークが PEG メチルエーテルの特徴を表すピークになる.

Fig.5.4, Fig.5.5 に分子量 550 および 2000 の PEG メチルエーテルを用いてコンドロイチン硫酸との合成を行った試料の ^1H NMR スペクトルを示す. 両者のスペクトルにおいて, Fig.5.1 に示したコンドロイチン硫酸中のアセチル基を現す $\delta=1.90$ [ppm]付近の鋭いピークと, 同じくコンドロイチン硫酸中のメチン, メチレン基を現す $\delta=3.20\sim 4.4$ [ppm]のピークが確認でき, 試料中にコンドロイチン硫酸が存在することが確認できた. さらに, 試料のスペクトルでは $\delta=3.70$ [ppm]付近にコンドロイチン硫酸の ^1H NMR スペクトルでは見られな

った鋭いピークが現れていることが分かる。これは、合成後の試料ではコンドロイチン硫酸とは異なる物質が存在している可能性を示唆している。Fig.5.2 よりこのピークの化学シフトは PEG メチルエーテルの繰り返し単位中のメチレン基のピークに等しいことが分かる。すなわち合成後の試料にはコンドロイチン硫酸と PEG メチルエーテルの両者が存在していることが示唆された。しかし、NMR の場合、化学的には結合していない単純な混合物でもそのピークを検出する。従って、現段階では合成後の試料に含まれているコンドロイチン硫酸と PEG メチルエーテルがエステル結合にて化学的に結合しているのか単に混合しているのかを判断することはできない。

$\delta=2.7, 2.8, 2.9$ [ppm]のピークは合成時に溶媒に用いた DMF のピークである。すなわち、試料作製工程中のろ過および凍結乾燥では溶媒が除去しきれず残留していることが明らかとなった。

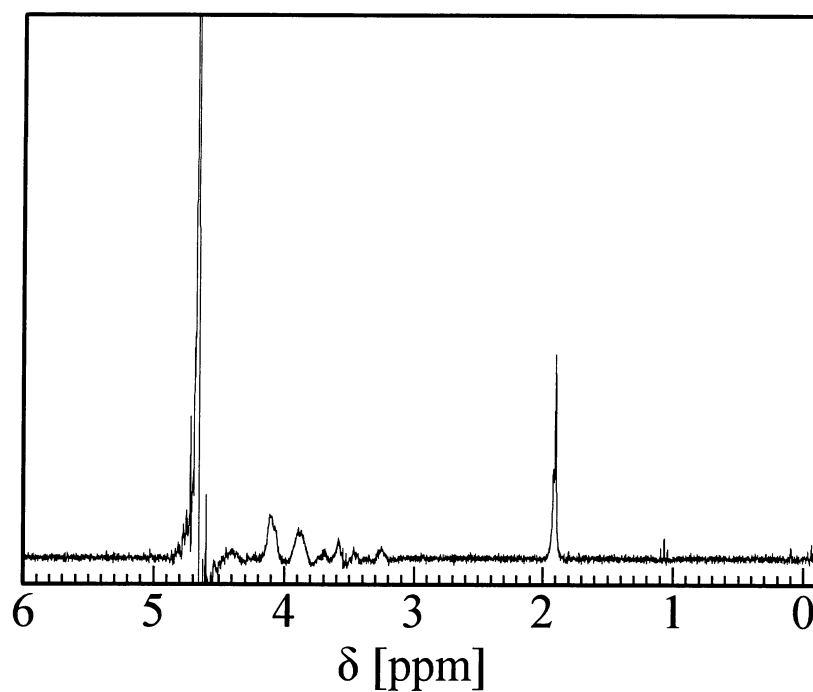


Fig.5.1 ^1H NMR spectrum of chondroitin sulfate

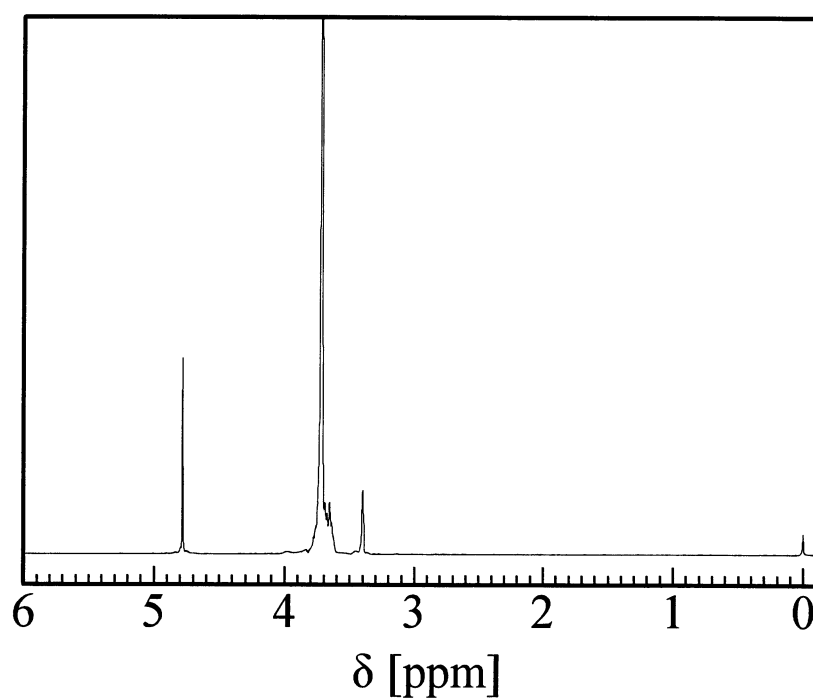


Fig.5.2 ^1H NMR spectrum of PEG methyl ether
(molecular weight : 550)

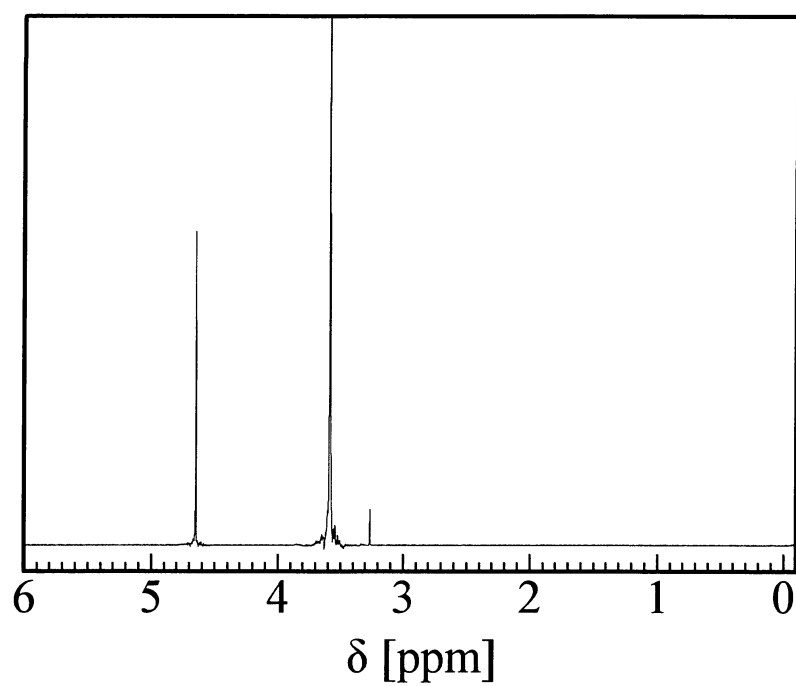


Fig.5.3 ^1H NMR spectrum of PEG methyl ether
(molecular weight : 2000)

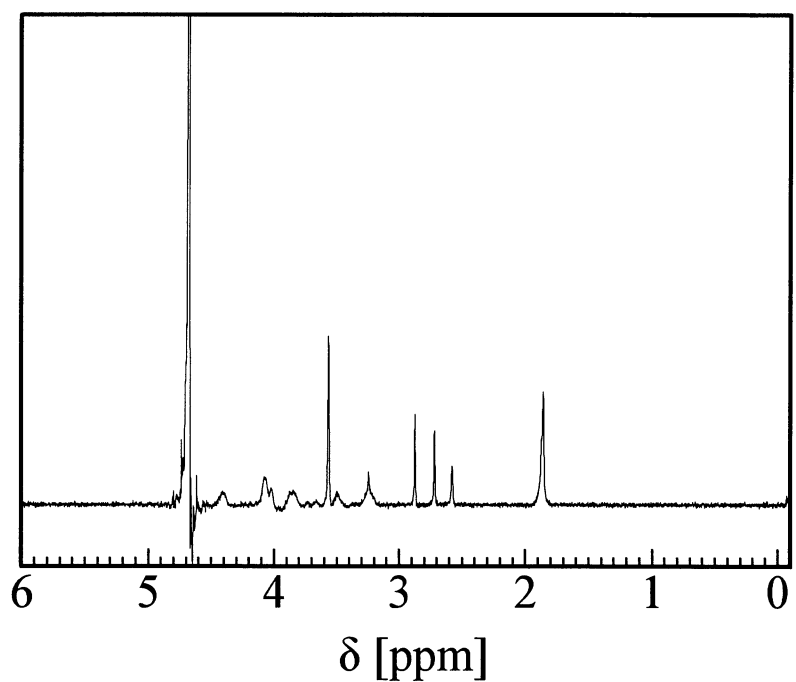


Fig.5.4 ^1H NMR spectrum of sample
(PEG methyl ether molecular weight : 550)

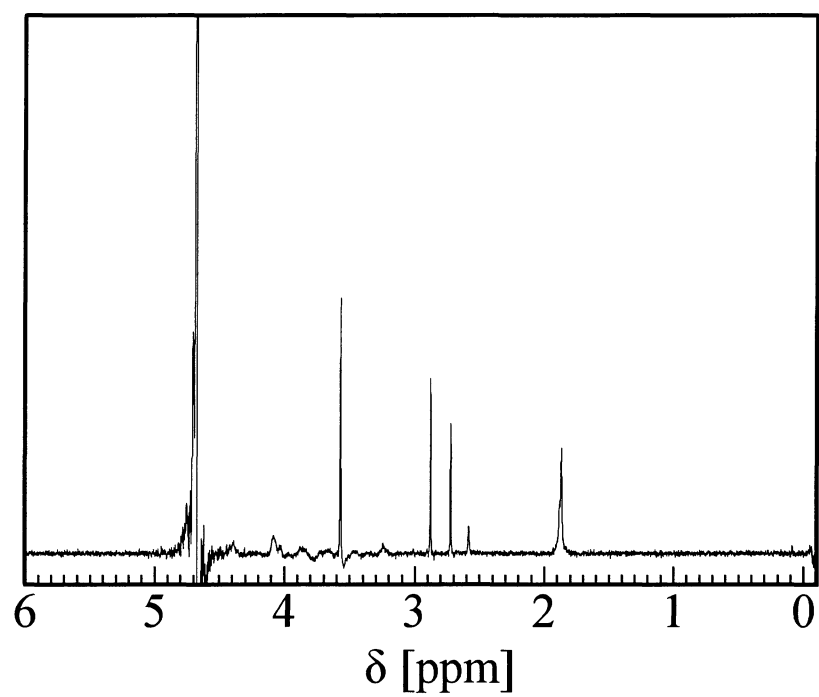


Fig.5.5 ^1H NMR spectrum of sample
(PEG methyl ether molecular weight : 2000)

5.2 糖被膜型磁性流体の特性

糖被膜型磁性流体では糖が有する官能基が変化すると合成時の pH 雰囲気による飽和磁化値や、分散状態の変化に違いが生じる。本研究で作製する糖被膜型磁性流体では、コンドロイチン硫酸の官能基が変化した PEG 化コンドロイチン硫酸を分散被膜剤に用いている。そのため、PEG 化コンドロイチン硫酸を分散被膜剤に用いた糖被膜型磁性流体ではコンドロイチン硫酸を用いたものと比べ合成時の pH 雰囲気に対する影響が変化している可能性がある。そこで、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いて合成時の pH 雰囲気を pH=4~11 まで種々変化させた試料を作製し、特性の変化を調査するとともに通常のコンドロイチン硫酸を用いた試料との比較を行った。

5.2.1 磁気特性の変化

コンドロイチン硫酸、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料のそれぞれについて中性領域の pH=7 付近、低 pH 領域の pH=4 付近、高 pH 領域の pH=9 付近にて作製した試料の磁化曲線をそれぞれ Fig.5.6, 5.7, 5.8 に示す。これらのグラフは横軸に磁場の強さ [kA/m] をとり、縦軸に磁化値 [$A \cdot m^2/kg$]をとったものである。最大印加磁場は 1080 [kA/m]とした。

(a) 中性領域

Fig.5.6 より、中性領域の試料では磁化曲線の形状にコンドロイチン硫酸を用いた試料（合成時 pH=7.35）と PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料（合成時 pH=7.57）の間に差異は無く、両者とも超常磁性を示した。磁化値は磁場を印加した直後から顕著に上昇し、500 [kA/m]あたりで飽和に達した。その後、最大印加磁場まで飽和状態を維持した。これは、中性領域で作製した試料は磁気ヒステリシスが殆どなく磁化されやすいことを示しており、磁化曲線の形状は軟磁性材料特有の磁気特性となった。

(b) 低 pH 領域

Fig.5.7 より、低 pH 領域の試料では磁化曲線の形状にコンドロイチン硫酸を用いた試料（合成時 pH=4.08）と PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料（合成時 pH=4.25）の間に差異は無く、両者とも残留磁化値および保磁力を有しておらず超常磁性を示した。しかし、中性領域で作製した試料との間には違いが見られた。低 pH 領域で作製した試料では中性領域で作製した試料と比べ磁化曲線の形状が直線的となり印加磁場の変化に対して飽和磁化値は緩やかに変化した。そのため、飽和に達するまでに必要な磁場の値が大きくなった。これは、低 pH で作製した試料は中性領域で作製した試料に比べ磁化されにくくなったことを示している。

(c) 高 pH 領域

Fig.5.8 より、高 pH 領域の試料では Fig.5.6, 5.7 と同様に磁化曲線の形状にはコンドロイチン硫酸を用いた試料（合成時 pH=9.57）と PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料（合成時 pH=9.06）の間に差異は無く、両者とも超常磁性を示した。また、高 pH で作製した試

料でも中性領域で作製した試料と同様に磁化値は磁場印加直後から顕著に上昇し 500 [kA/m]あたりで飽和に達した。その後も中性領域で作製した試料と同様、最大印加磁場まで飽和状態を維持した。すなわち、高 pH で作製した試料においても軟磁性材料特有の磁気特性を示した。

5.2.2 飽和磁化値の変化

合成時の pH 雰囲気をも pH=4~11 まで種々変化させた試料を作製した際の合成時 pH と飽和磁化値の関係を Fig.5.9 に示す。このグラフは横軸に合成時の pH をとり、縦軸に印加磁場が最大の 1080[kA/m]における飽和磁化値 $[A \cdot m^2/kg]$ をとったものである。

(a) 中性領域

Fig.5.9 より、コンドロイチン硫酸を用いた試料では pH=7~8 の中性領域で作製した試料で飽和磁化値が高くなった。その値は pH=8.33 で最大となり、最大飽和磁化値は 21.6 $[A \cdot m^2/kg]$ となった。

一方、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料でもコンドロイチン硫酸を用いた試料と同様、中性領域で作製した試料で飽和磁化値が高くなった。その値は pH=7.57 で最大となり最大飽和磁化値は 20.4 $[A \cdot m^2/kg]$ と、コンドロイチン硫酸を用いた試料の最大飽和磁化値に近い値となった。

(b) 低 pH 領域

同図より、コンドロイチン硫酸を用いた試料では pH=4~6 の低 pH 領域において、合成時 pH が中性領域よりも低くなるにつれて飽和磁化値は低下していき、その値は pH=4.08 で 0.252 $[A \cdot m^2/kg]$ となりほぼ磁化値を示さなくなった。

一方、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料でもコンドロイチン硫酸を用いた試料と同様、中性領域よりも合成時 pH が低くなるにつれて飽和磁化値は低下していく傾向を示した。その値は pH=4.09 で 0.1197 $[A \cdot m^2/kg]$ となりほぼ磁化値を示さなくなった。

(c) 高 pH 領域

同図より、コンドロイチン硫酸を用いた試料では pH=9~10 の高 pH 領域において、中性領域より合成時 pH が高くなるにつれて飽和磁化値が低下していき、その値は pH=10.08 で 1.16 $[A \cdot m^2/kg]$ となりほぼ磁化値を示さなくなった。さらに高 pH 側では pH=11 以上の試料では微粒子がほぼ全て沈殿し分散状態を保てなくなった。

一方、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料では中性領域より高 pH の領域においては合成時 pH が高くなるにつれて飽和磁化値は低下していく傾向がみられた。しかし、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料ではコンドロイチン硫酸を用いた試料に比べ pH の上昇とともに低下の度合いがやや大きく高い飽和磁化値を維持できる領域が狭くなった。さらに PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料では高 pH の領域において pH=10 以上の試料で微粒子がほぼ全て沈殿し分散状態を保てなくなり、コンドロイチン硫酸を用いた試料に比べ分散可能な領域が縮小傾向を示した。

5.2.3 コロイド径の変化

合成時の pH 雰囲気を変化させた試料を作製した際の合成時 pH とコロイド径の関係を Fig.5.10 に示す。このグラフは横軸に合成時の pH をとり、縦軸にコロイド径 [nm]をとったものである。

(a) 中性領域

Fig.5.10 より、コンドロイチン硫酸を用いた試料では、中性領域の pH=7~8 で作製した試料は他の領域の試料と比べコロイド径が小さくなった。いずれの試料も 170 [nm]前後で横ばいとなり、最も小さいものは pH=8.01 で 164.1 [nm]となった。

一方、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料でもコンドロイチン硫酸を用いた試料と同様、中性領域で作製した試料は他の領域の試料と比べコロイド径が小さくなった。いずれの試料も 180 [nm]前後で横ばいとなり、最も小さいものは pH=7.15 で 156.0 [nm]となった。

(b) 低 pH 領域

同図より、コンドロイチン硫酸を用いた試料では低 pH 領域の pH=4~6 で作製した試料は中性領域で作製した試料に比べコロイド径が増加し 300 [nm]以上となった。また、合成時 pH が低くなるにつれてコロイド径も大きくなり、低 pH 領域の最大値は pH=4.14 で 423.3 [nm]となった。

一方、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料ではコンドロイチン硫酸を用いた試料と同様、中性領域で作製した試料に比べコロイド径が増加し 350 [nm]以上となった。また、合成時 pH が低くなるにつれてコロイド径も大きくなり、低 pH 領域の最大値は pH=4.25 で 375.7 [nm]となった。

(c) 高 pH 領域

同図より、コンドロイチン硫酸を用いた試料では高 pH 領域の pH=9~11 で作製した試料は低 pH 領域と同様、中性領域で作製した試料に比べコロイド径が増加し 300 [nm]以上となった。また、合成時 pH が高くなるにつれてコロイド径が大きくなり、高 pH 領域の最大値は pH=10.08 で 509.6 [nm]となった。

一方、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料ではコンドロイチン硫酸を用いた試料と同様、中性領域で作製した試料に比べコロイド径が増加し 380 [nm]以上となった。また、高 pH 領域の pH=9~10 で作製した試料ではいずれも 400 [nm]前後の値をとり、その値は pH=9.12 で最大となり 449.2 [nm]となった。また、pH の変化に対して、低 pH 領域ではコロイド径が緩やかに変化したのに対して高 pH 領域では pH の上昇とともに顕著に増加した。

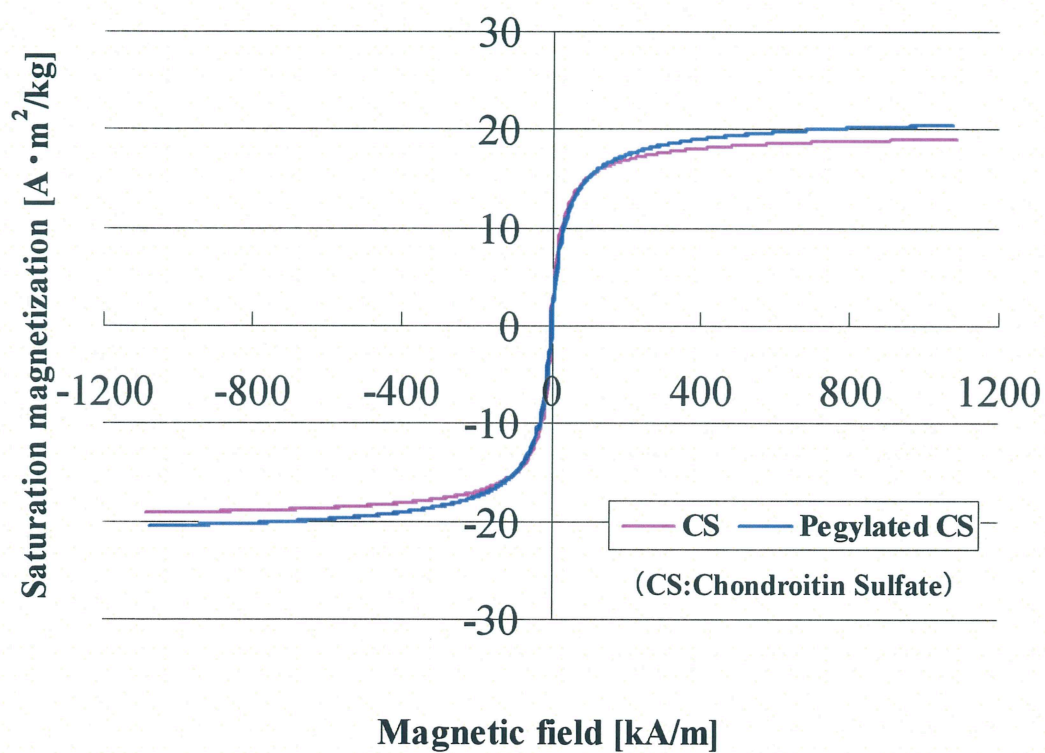


Fig.5.6 Magnetization curve : synthesis pH \approx 7

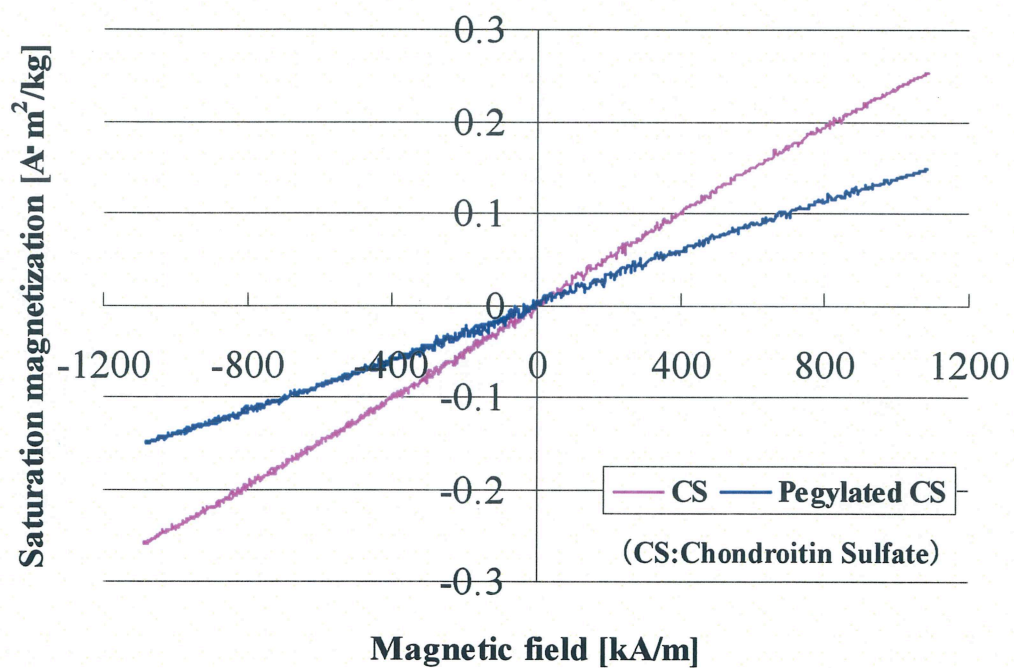


Fig.5.7 Magnetization curve : synthesis pH \approx 4

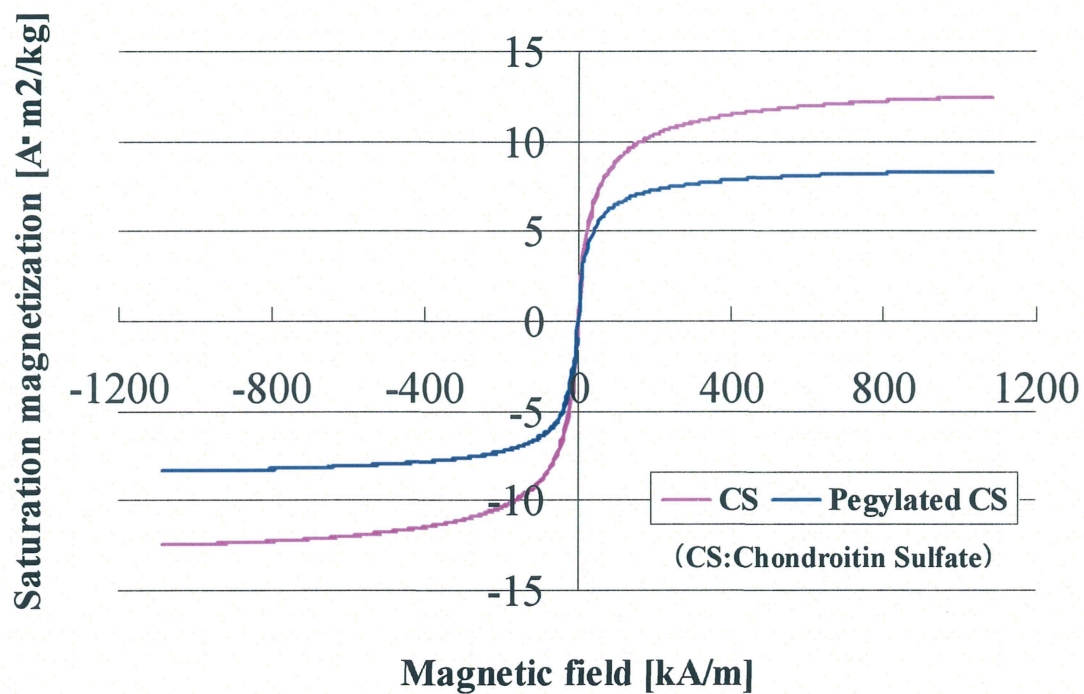


Fig.5.8 magnetization curve : synthesis pH ≈ 9

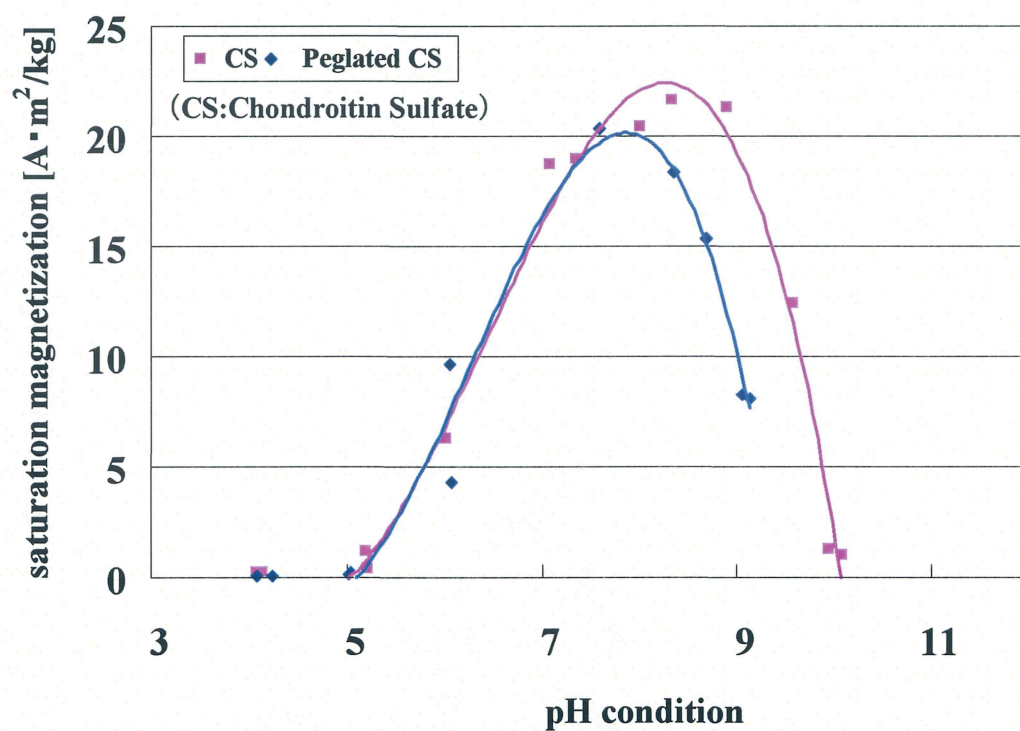


Fig.5.9 Relation between synthesis pH condition and saturation magnetization

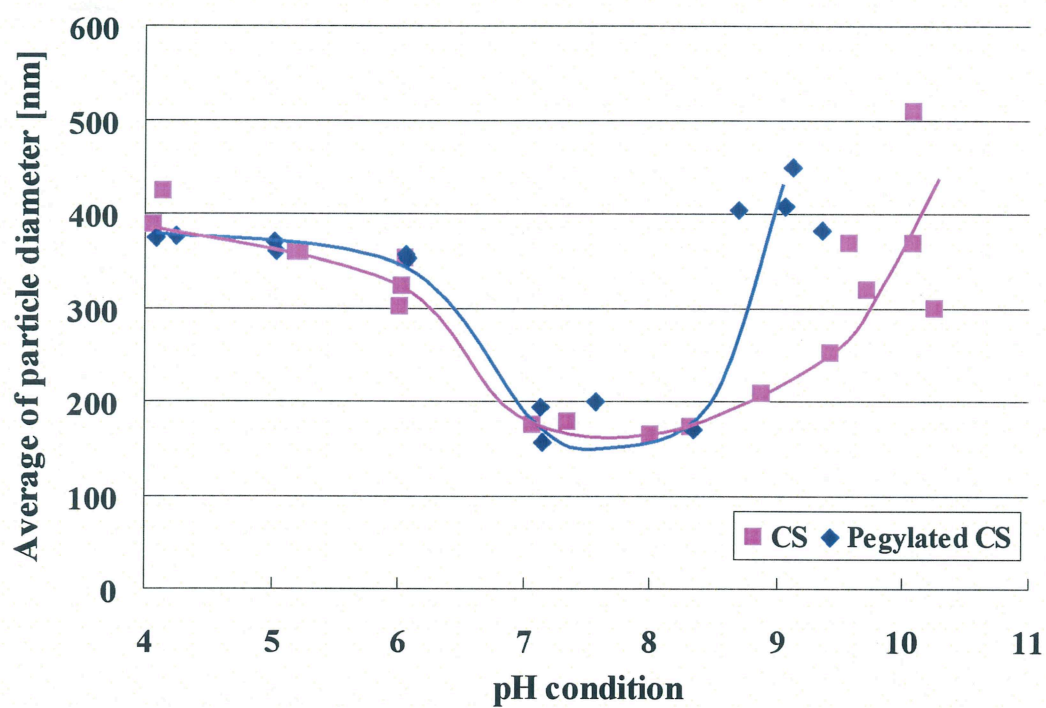


Fig.5.10 Relation between synthesis pH condition and particle diameter

6. 考察

6.1 PEG 化コンドロイチン硫酸の合成

NMR の解析結果より、試料中にはコンドロイチン硫酸、PEG メチルエーテルの両者が存在していることが確認されたが化学的な結合の有無までは確認することができなかった。しかし、コンドロイチン硫酸と PEG メチルエーテルが混合しているのではなく化学的に結合しているのであればコンドロイチン硫酸の化学構造に変化が生じているはずである。そこで、IR 分析にてコンドロイチン硫酸および試料の解析を行った。コンドロイチン硫酸の IR スペクトルと試料の IR スペクトルとの比較を行いコンドロイチン硫酸における化学構造の変化を調べた。Fig.6.1～6.3 にコンドロイチン硫酸および試料の IR スペクトルを示す。これらのスペクトルは 4.1.2 節で述べたとおり縦軸に赤外線透過度を取り、横軸に波数をとる。このスペクトルの形状は複雑で人間の指紋のように物質固有の形状となり、吸収が起こる波数や透過度を詳しく解析することで官能基や結合の種類など基本的な構造を解析することができる。

Fig.6.1 にコンドロイチン硫酸の IR スペクトルを示す。Fig.6.1 より、 $3400\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近に広い吸収帯が見られる。これは、水酸基 (-OH) に由来する吸収である。その他、 $1230\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近にスルホ基 (SO_3H) の S=O に由来する吸収が、 $820\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近に硫酸エステル ($\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{H}$) の C-O-S に由来する吸収が見られる。さらに、 $1630\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近にカルボキシル基に由来する吸収が見られる。コンドロイチン硫酸と PEG メチルエーテルが脱水縮合にてエステル結合で化学的に結合した場合はこの $1630\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近のカルボキシル基に由来する吸収に変化が生じるはずである。

Fig.6.2, 6.3 に PEG メチルエーテルの分子量 550 および分子量 2000 を用いて合成を行った試料の IR スペクトルを示す。Fig.6.2, 6.3 より、Fig.6.1 と同様に $3400\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近の水酸基、 $1230\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近のスルホ基 (SO_3H) の S=O の吸収、および $820\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近の硫酸エステル ($\text{CH}_2\text{OSO}_3\text{H}$) の C-O-S に由来する吸収が確認できコンドロイチン硫酸の特徴を表していることが分かる。しかし、 $1630\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近のカルボキシル基に由来する吸収は Fig.6.1 とは異なり、単一ピークだったものが枝分かれを起こし変化している。これはコンドロイチン硫酸のカルボキシル基部分の構造が変化したことを示している。枝分かれし新たに検出された吸収は $1740\text{ [cm}^{-1}\text{]}$ 付近に現れており、この吸収はエステル (-COO-) に由来するものである。これは、合成後の試料ではコンドロイチン硫酸のカルボキシル基がエステルに変化しており、PEG メチルエーテルが脱水縮合にて化学的に結合したことを示している。すなわち、NMR 解析結果と合わせて、合成後の試料は PEG メチルエーテルがコンドロイチン硫酸に結合した PEG 化コンドロイチン硫酸であると言える。

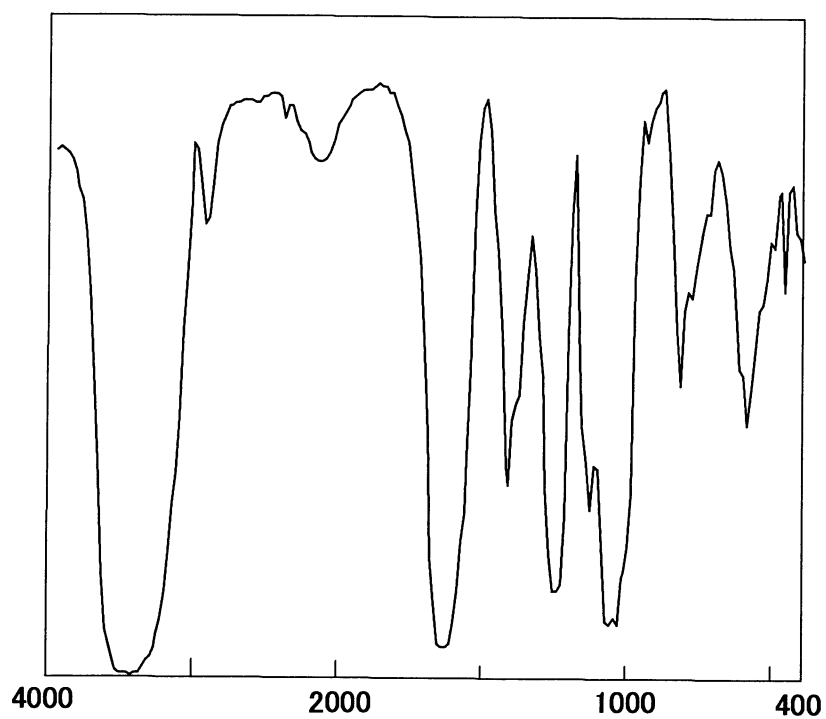


Fig.6.1 IR spectrum of chondroitin sulfate

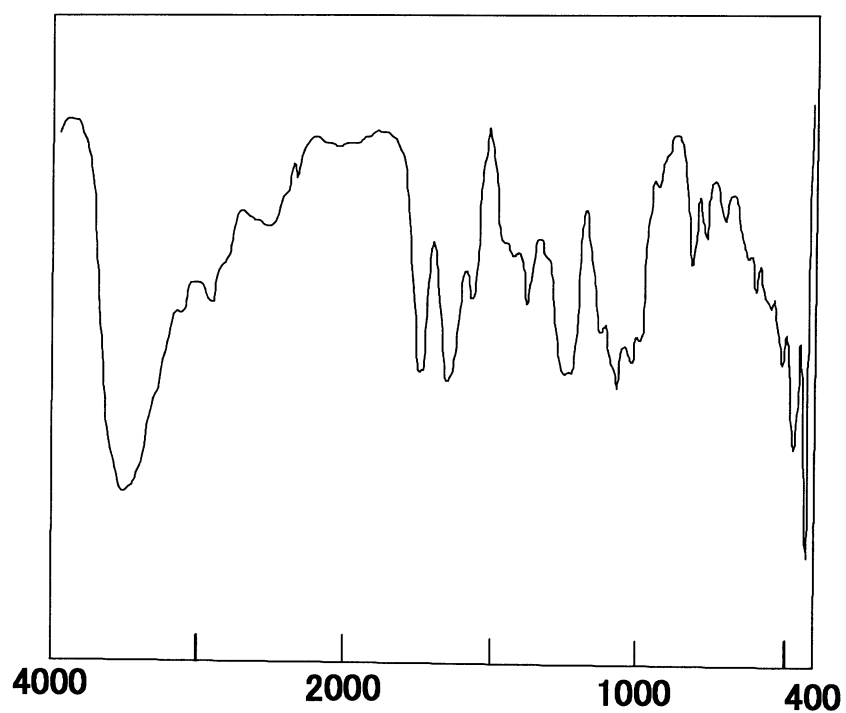


Fig.6.2 IR spectrum of sample
(PEG methyl ether molecular weight : 550)

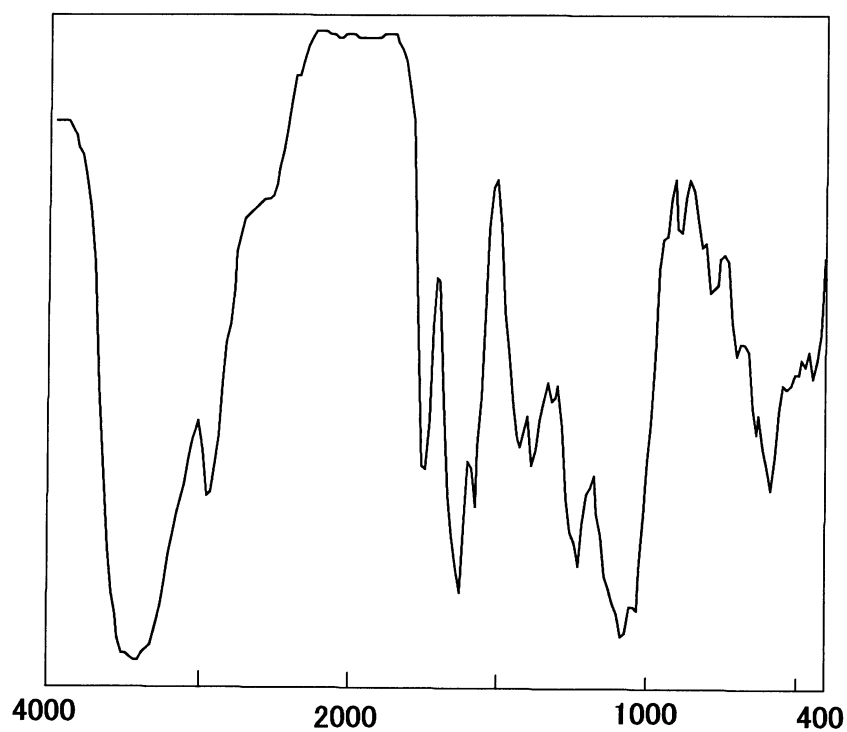


Fig.6.3 IR spectrum of sample
(PEG methyl ether molecular weight : 2000)

6.2 糖被膜型磁性流体の特 性

6.2.1 磁気特性の変化

合成時 pH の変化に伴い磁気特性が変化した要因の一つにコアの変化が挙げられる。磁性流体の磁気特性を決定づけるのはコアである磁性微粒子のみであるため、コアの組成、結晶構造および粒径などに変化が生じると磁気特性にも大きな影響を与え ると考えられる。

(a) 透過型電子顕微鏡 (TEM) によるコアの観察

合成時 pH の変化に伴うコアの変化を確認するため TEM にて粒子の観察を行った。コンドロイチン硫酸を用いた試料、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料のそれぞれについて中性領域の pH=7 付近、低 pH 領域の pH=4 付近、高 pH 領域の pH=9 付近で作製した試料を観察した結果を以下に示す。加速電圧は 100 [kV]もしくは 80 [kV]とし、倍率は 10 万倍にて観察を行った。

(a)-1 中性領域

コンドロイチン硫酸を用いた試料 (合成時 pH=7.35) および PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料 (合成時 pH=8.14) の TEM 写真をそれぞれ Fig. 6.4 (a), (b) に示す。

Fig.6.4 (a) より、コンドロイチン硫酸を用いた試料の粒子は多少いびつではあるが球形のような形状で分散していることが分かる。過去の研究においてマグヘマイト微粒子を観察した際に同様の形状が確認されている¹⁴⁾。このことから本試料ではコアの磁性微粒子にマグヘマイト微粒子が生成されていると推測される。

次に、Fig.6.4 (b) より、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料でもコンドロイチン硫酸を用いた試料と同様に球状の粒子が分散していることが分かる。両者の飽和磁化値の間に大きな差は無いことから PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料においてもマグヘマイトが生成されたと推測される。

さらに、TEM 写真から粒径を算出した結果、コンドロイチン硫酸を用いた試料では 6.96 ± 1.52 [nm]、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料では 6.56 ± 1.28 [nm]となり両者の間に大きな差異は見られなかった。

(a)-2 低 pH 領域

コンドロイチン硫酸を用いた試料 (合成時 pH=4.08) および PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料 (合成時 pH=4.25) の TEM 写真をそれぞれ Fig. 6.5 (a), (b) に示す。

Fig.6.5 (a) より、コンドロイチン硫酸を用いた試料の粒子の形状は針状となり、中性領域で作製した試料とは異なる形状となった。さらに、粒子の大きさも中性領域のものとは比べ非常に大きなものとなった。これは、低 pH 領域で作製した試料のコアが中性領域で作製した試料のものとは変化していることを示している。その形状からこの粒子は 2.1.1 節で述べた反強磁性体で磁化率が低いヘマタイトであると推測される¹⁵⁾。また、ヘマタイトは通常粉末では赤褐色を示すのに対して、低 pH 領域で作製した試料も赤褐色の溶液となった。このこともコアがヘマタイトであることを示唆している。

次に、Fig.6.5 (b) より、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料でもコンドロイチン硫酸を用いた試料と同様に、中性領域で作製した試料のものと比べ粒子の形状が針状に変化しているのが分かる。また、試料の色も赤褐色の溶液となった。すなわち、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料でも、低 pH で作製した試料のコアはヘマタイトが生成されたと推測される。

(a)-3 高 pH 領域

コンドロイチン硫酸を用いた試料（合成時 pH=10.08）および PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料（合成時 pH=9.06）の TEM 写真をそれぞれ Fig. 6.6 (a), (b) に示す。

Fig. 6.6 (a) より、コンドロイチン硫酸を用いた試料の粒子は中性領域で作製した試料の様な球状の粒子となった。すなわち、高 pH 領域で作製した試料では中性領域で作製した試料と同様にマグヘマイトが生成したと推測される。

また、Fig. 6.6 (b) より、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料（合成時 pH=9.06）でも球状の粒子が確認されマグヘマイトの生成が示唆された。しかし、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料では球状粒子だけでなく一部粗大な針状の粒子が確認された。すなわち、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料のコアでは、大半はマグヘマイトが生成されているが一部ヘマタイトも生成されていると推測される。

(b) X 線回折によるコアの定性分析

TEM 写真結果から合成時 pH によってコアが変化していることが示唆されたため X 線回折を用いて定性分析を行った。コンドロイチン硫酸を用いた試料、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料のそれぞれについて中性領域の pH=7 付近、低 pH 領域の pH=4 付近、高 pH 領域の pH=9 付近の試料の X 線回折結果を以下に示す。これらのグラフは横軸に回折角 2θ [°] をとり、縦軸は回折強度 [cps] をとったものである。また、グラフ中の●はマグヘマイトの標準ピークを表している。

(b)-1 中性領域

コンドロイチン硫酸を用いた試料（合成時 pH=7.35）および PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料（合成時 pH=7.57）の X 線回折結果を Fig.6.7 に示す。Fig.6.7 より、コンドロイチン硫酸を用いた試料のピークの位置はマグヘマイトのものと一致し、回折強度の高低もマグヘマイトのものに一致していることが分かる。

一方、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料においてもピークの位置、回折強度の高低がマグヘマイトのものと一致していることが分かる。以上のことからコンドロイチン硫酸を用いた試料、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料ともにコアに違いは無く両者ともマグヘマイトが生成されていることが確認された。

3.1.2 節で述べた通りマグヘマイトは強磁性の一種であるフェリ磁性を示し高い磁化率を有する。すなわち、中性領域で作製した試料ではいずれの試料においてもコアに強磁性体のマグヘマイトが生成されたため磁化値は磁場を印加した直後から顕著に上昇し、比較的弱い磁場で飽和に達する磁気特性になったと考えられる。

(b)-2 低 pH 領域

コンドロイチン硫酸を用いた試料（合成時 pH=4.08）および PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料（合成時 pH=4.25）の X 線回折結果を Fig.6.8 に示す。Fig.6.8 より、コンドロイチン硫酸を用いた試料の回折ピークはブロードとなりほぼピークは立たなかった。

一方、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料でも回折ピークはブロードとなりピークは立たずコンドロイチン硫酸を用いた試料と同様の結果となった。これはいずれの試料においても低 pH 領域で作製した試料ではコアの結晶性が低下し非晶質となったことを示している。

すなわち、(a)-2 における TEM 写真の結果と合わせて、低 pH 領域で作製された試料ではコンドロイチン硫酸、PEG 化コンドロイチン硫酸のいずれを用いた試料でもコアは磁化率が極めて低い非晶質のヘマタイトとなったために磁化されにくくなり、磁気特性は低下し外部磁場に対して磁化値が緩やかに上昇するような磁気特性になったと考えられる。

(b)-3 高 pH 領域

コンドロイチン硫酸を用いた試料（合成時 pH=9.57）および PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料（合成時 pH=9.12）の X 線回折結果を Fig.6.9 に示す。Fig.6.9 より、コンドロイチン硫酸を用いた試料では中性領域の試料と同様にピークの位置、強度の高低はマグヘマイトのものに一致していることが分かる。

一方、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料でもピークの位置、強度の高低がマグヘマイトのものと一致していることが分かる。

これは、コンドロイチン硫酸、PEG 化コンドロイチン硫酸のいずれを用いた試料でも高 pH 領域で作製した試料ではコアはマグヘマイトが生成されたことを示す。すなわち、高 pH 領域で作製した試料でも中性領域で作製した試料と同様にコアにマグヘマイトが生成されたため磁気特性も中性領域のものと同様の傾向になり、磁化値は磁場を印加した直後から顕著に上昇し、比較的弱い磁場で飽和に達する磁気特性になったと考えられる。

6.2.2 飽和磁化値の変化

合成時の pH の変化に伴い、飽和磁化値は中性領域で最も高くなり、それよりも低 pH もしくは高 pH になるに従い低下傾向を示した要因について各領域ごとに考察を行う。

(a) 中性領域

6.2.1 節の TEM 写真結果および X 線回折結果より、中性領域ではコアに強磁性体で高い磁化率を有するマグヘマイトが生成されており、その結晶性も他の pH 領域での試料と比べて高い。すなわち、他の pH 領域での試料と比べコアの磁気特性が優れているため中性領域で最も飽和磁化値が高くなったものと思われる。

(b) 低 pH 領域

6.2.1 節の TEM 写真結果および X 線回折結果より、低 pH 領域での合成時 pH の低下に伴う飽和磁化値の低下は磁化率の低いヘマタイトの生成およびコアの結晶性の低下に伴うものであると考えられる。ここで、コアの結晶性の低下傾向を確認するためにコンドロイチ

ン硫酸を用いた試料, PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料のそれぞれについて, pH=6 付近で作製した試料の X 線回折結果を Fig.6.10 に示す. なお合成時 pH はそれぞれ pH=6.01, pH=6.05 である. Fig.6.10 より, コンドロイチン硫酸, PEG 化コンドロイチン硫酸のいずれを用いた試料でもピークを確認することができ, そのピーク位置はマグヘマイトのものと一致していることが分かる. また, ピーク強度は中性領域のものと比較してやや小さく, ブロードになるものの pH=4 付近の試料に比べると高くなっているのが分かる. すなわち, ピーク強度が, 中性領域 > pH=6 > pH=4 の順に小さくなっていくことから, 中性領域から合成時 pH が低くなるにつれて結晶性は徐々に低下していくと考えられる. よって, 低 pH 領域にて合成時 pH の低下に伴い飽和磁化値が低下傾向を示した要因の一つはコアの結晶性の低下に伴うものであると考えられる.

(c) 高 pH 領域

6.2.1 節の TEM 写真結果および X 線回折結果より, 高 pH 領域では中性領域と比べてコアの特性の変化は見られなかった. すなわち, 高 pH 領域での合成時 pH の上昇に伴う飽和磁化値の低下は低 pH 領域のようなコアの特性低下によるものではなく, 別の要因が存在すると思われる.

そこで, 飽和磁化値低下のもう一つの要因として考えられるのが溶液試料中における微粒子濃度の低下である. 本研究で作製している磁性流体は, 磁性微粒子に糖を被膜させたコロイドである. よって, 飽和磁化値は 4.2.1 節で述べた通り磁性微粒子および糖を含めた試料の単位質量あたりの磁化値を算出している. そのため, 試料中に含まれる磁性微粒子の量が減少したり, 糖の量が増加したりするなどして溶液試料中における磁性微粒子の濃度が低下するとみかけの飽和磁化値は減少する. そこで, 合成時 pH の変化に伴う磁性微粒子濃度の変化を 3.2.2 節で述べた試料作製工程中の遠心分離後の沈殿物を用いて間接的に明らかにした.

分散能が低く溶液試料中から除去された遠心分離後の沈殿物質量が多いほど微粒子濃度が低いことを示す. そこで, 遠心分離後の沈殿物質量を計測し, 微粒子濃度の間接的な指標とした. 予め質量を計測しておいた容器に遠心分離後の沈殿物を充填し, 凍結乾燥を行い水分の除去を行う. 凍結乾燥後の容器の質量を計測し, 沈殿物充填前の質量との差を取る. 試料ごとに溶液量が異なるため, その値を試料の溶液量で除したものを沈殿物の質量とした.

コンドロイチン硫酸, PEG 化コンドロイチン硫酸を用いて作製した試料について, 合成時 pH の変化に伴う遠心分離後の沈殿物質量の変化と飽和磁化値の関係をそれぞれ Fig.6.11, Fig.6.12 に示す. このグラフは, 横軸に合成時 pH をとり, 左側縦軸に遠心後の沈殿物の質量を, さらに右側縦軸に飽和磁化値をとったものである.

Fig.6.11, より, コンドロイチン硫酸を用いた試料では低 pH 領域, 中性領域, 高 pH 領域のいずれの領域でも飽和磁化値の大小と遠心分離後の沈殿物質量の大小は逆転の関係にあり, 沈殿物質量が多いほど飽和磁化値が低くなっている.

一方、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料でも飽和磁化値の大小と遠心分離後の沈殿物質量の大小関係はいずれの領域でもコンドロイチン硫酸のものと同様の傾向を示した。

すなわち、両者の試料とも高 pH 領域で遠心分離後の沈殿物の質量は中性領域のものに比べて多くなっており、溶液試料中の微粒子濃度は低くなっていると言える。よって、いずれの試料においても高 pH 領域での飽和磁化値の低下は溶液試料中の微粒子濃度の低下によるものと考えられる。

また、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料ではコンドロイチン硫酸を用いた試料に比べ高 pH 領域での飽和磁化値の低下の度合いがやや大きく高い飽和磁化値を維持できる領域が狭くなった要因も溶液試料中の微粒子濃度の低下であると思われる。両者の試料の間で飽和磁化値に差が開いた pH=9 付近で作製した試料の遠心分離後の沈殿物質量を比較してみると、コンドロイチン硫酸を用いた試料では合成時 pH=8.89、飽和磁化値は 21.27 [A·m²/kg]で遠心分離後の沈殿物質量が 0.0004 [g/ml]なのに対し、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料では合成時 pH=9.12、飽和磁化値は 8.08 [A·m²/kg]で遠心分離後の沈殿物質量が 0.0062 [g/ml]となり、飽和磁化値は約半分に低下し、遠心分離後の沈殿物質量は約 15 倍に増加した。すなわち、高 pH 領域にて PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料では、分散被膜剤である PEG 化コンドロイチン硫酸の微粒子に吸着できる pH 領域がコンドロイチン硫酸に比べ縮小し、分散能力が低下したと思われる。そのため、コンドロイチン硫酸を用いた試料に比べ、pH=9 付近で溶液試料中の微粒子濃度が低くなり飽和磁化値低下の度合いが大きくなったと考えられる。

通常、高 pH 領域であるアルカリでは 2.3 節で述べた通りマグヘマイト微粒子表面は負に帯電し、電気二重層を形成するため表面には正の電荷が集まる。一方、コンドロイチン硫酸は官能基にカルボキシル基、スルホ基を有するため水溶液中では負に帯電する。そのため、マグヘマイト微粒子の正の電荷とコンドロイチン硫酸中のカルボキシル基、スルホ基による負の電荷との静電引力で両者は吸着する。しかし、PEG 化コンドロイチン硫酸では一部のカルボキシル基を非イオン性である PEG メチルエーテルに置換しているためカルボキシル基による負の電荷は少なくなる。そのため、高 pH 領域ではコンドロイチン硫酸に比べ吸着力が弱まり、分散能力が低くなることで溶液試料中の微粒子濃度が薄くなり飽和磁化値低下の度合いが大きくなったと考えられる。

6.2.3 コロイド径の変化

合成時の pH の変化に伴い、コロイド径は中性領域で最も小さくなり、それよりも低 pH もしくは高 pH になるに従い大きくなる傾向を示した要因について領域ごとに考察を行う。

(a) 中性領域

中性領域においてコンドロイチン硫酸を用いた試料ではコンドロイチン硫酸のカルボキシル基やスルホ基が負に帯電することによる静電的斥力や高分子吸着層による立体障害効果が適切に働くことで粒子の分散は安定しコロイド径が小さくなったものと思われる。

一方、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料ではカルボキシル基の消失による静電的斥力はやや弱くなったと考えられるが、立体障害効果やスルホ基による静電的斥力が十分に働き凝集にいたらず分散したものと思われる。

(b) 低 pH 領域

コンドロイチン硫酸を用いた試料でコロイド径が大きくなった要因は微粒子濃度の低下であると思われる。

高分子を界面活性剤や分散剤に用いたコロイドでは分散性が安定している状態よりも高分子の濃度を高くすると、イオン濃度の増大により電気二重層の厚さが圧縮され静電的斥力が減少することによる凝集や架橋凝集などの凝集がおこることがある¹⁶⁾。

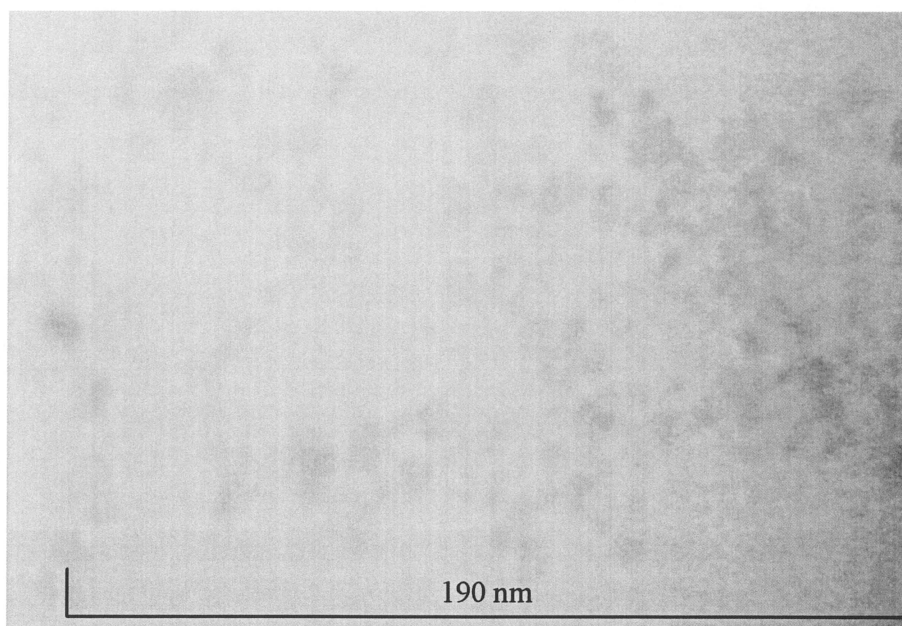
前節で述べた通り低pH領域で作製した試料では遠心分離後の沈殿物質量が大きくなり溶液試料中の微粒子濃度が低くなっていると思われる。溶液試料中の微粒子濃度が低くなることで相対的に高分子の濃度は高くなり上記のような凝集が起こったためにコロイド径が大きくなったと思われる。

一方、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料でも遠心分離後の沈殿物質量がコンドロイチン硫酸を用いた試料と同様であるため、凝集のメカニズムもコンドロイチン硫酸を用いた試料と同様であると思われる。すなわち、溶液試料中の微粒子濃度が低くなることで相対的に高分子濃度が高くなり凝集がおこったと思われる。

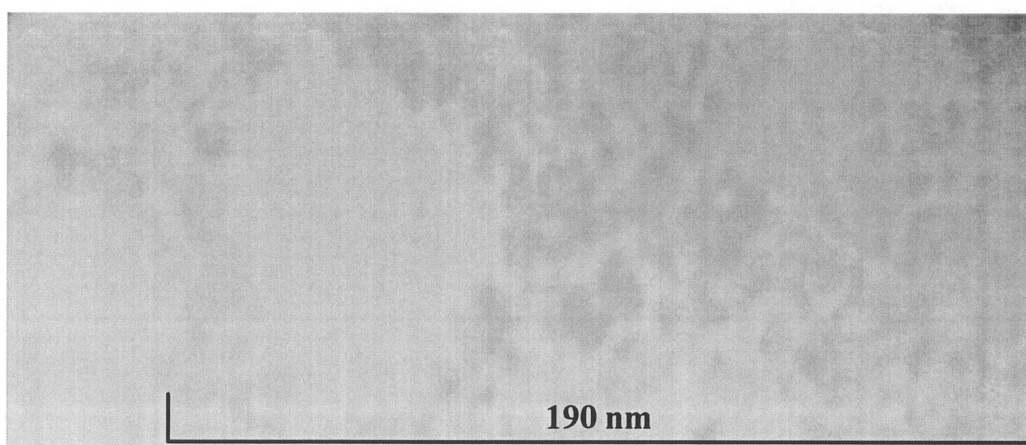
(c) 高 pH 領域

コンドロイチン硫酸を用いた試料では遠心分離後の沈殿物質量の変化は低pH領域の試料と大きな差異がないため、高 pH 領域でのコロイド径の増加は低 pH 領域でのコロイド径の増加のメカニズムと同様であると思われる。

一方、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料ではコロイド径の増加傾向がコンドロイチン硫酸を用いた試料とやや異なり、緩やかに増加するのではなく pH=9 付近で顕著に増加した。ここで、遠心分離後の沈殿物質量の計測結果と照合するとコロイド径が顕著に大きくなった試料と沈殿物質量が顕著に増加した試料は一致していることが分かる。すなわち、コロイド径の増加傾向と遠心分離後の沈殿物質量の増加傾向が等しいことから PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料におけるコロイド径の増加も低pH領域でのコロイド径の増加のメカニズムと同様であると思われる。すなわち、溶液試料中の微粒子濃度が低くなることで相対的に高分子濃度が高くなり凝集がおこったと思われる。また、PEG メチルエーテルの結合によるカルボキシル基の消失により、コンドロイチン硫酸を用いた試料に比べ分散能力を維持できる領域が縮小したためコロイド径が顕著に増加したと思われる。

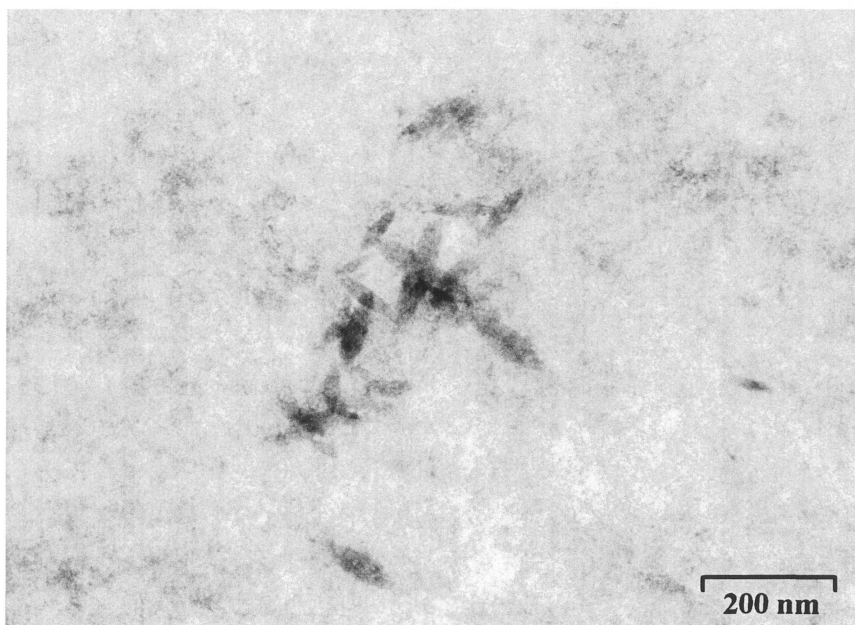


(a)

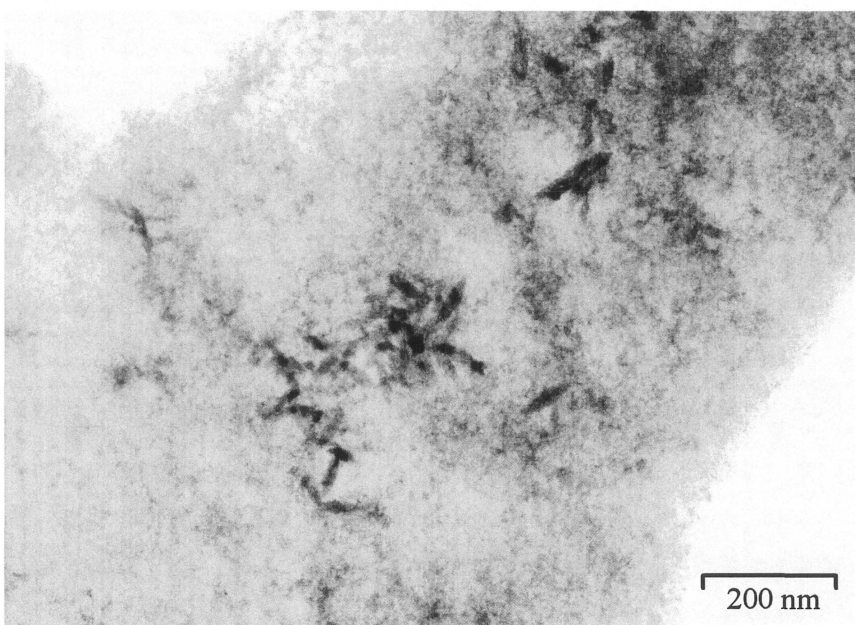


(b)

Fig.6.4 Magnetic particle coated with (a) chondroitin sulfate
(b) pegylated chondroitin sulfate at neutral pH

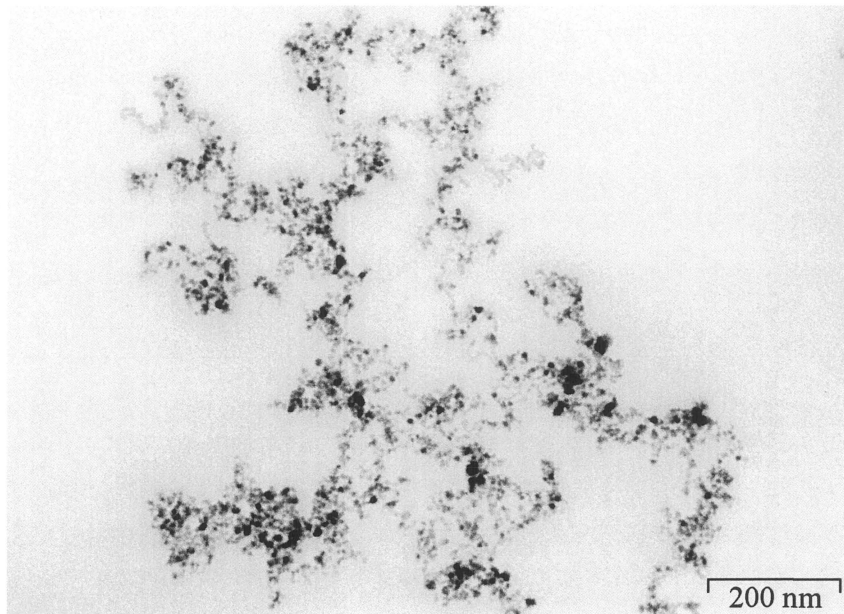


(a)

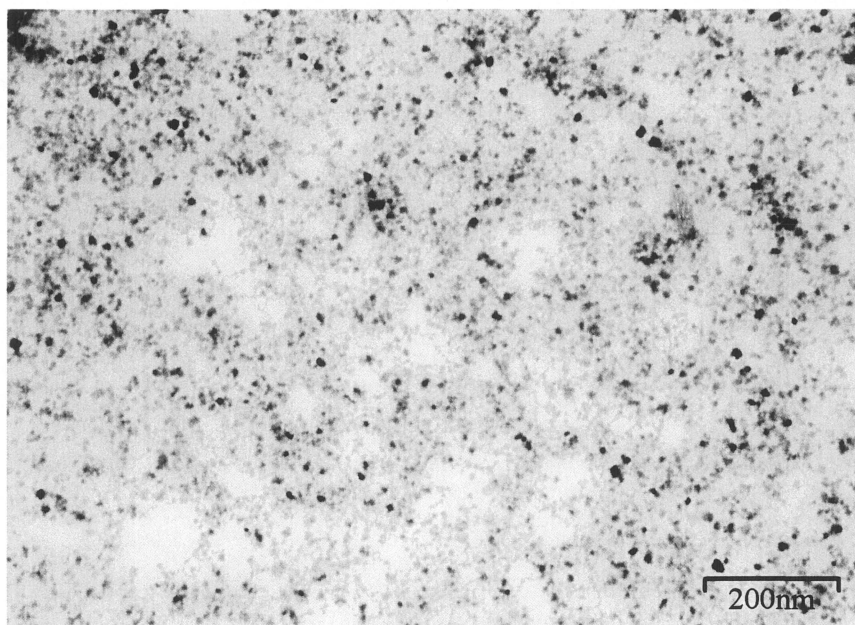


(b)

Fig.6.5 Magnetic particle coated with (a) chondroitin sulfate
(b) pegylated chondroitin sulfate at acid pH



(a)



(b)

Fig.6.6 Magnetic particle coated with (a) chondroitin sulfate
(b) pegylated chondroitin sulfate at alkali pH

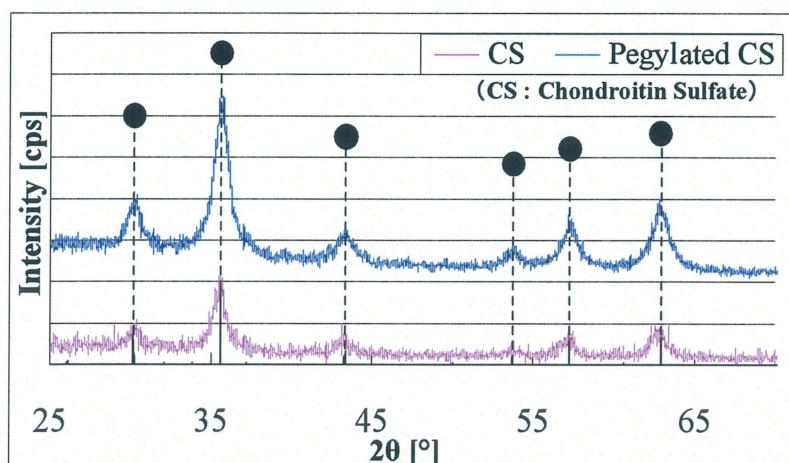


Fig.6.7 XRD patterns at synthesis pH=7

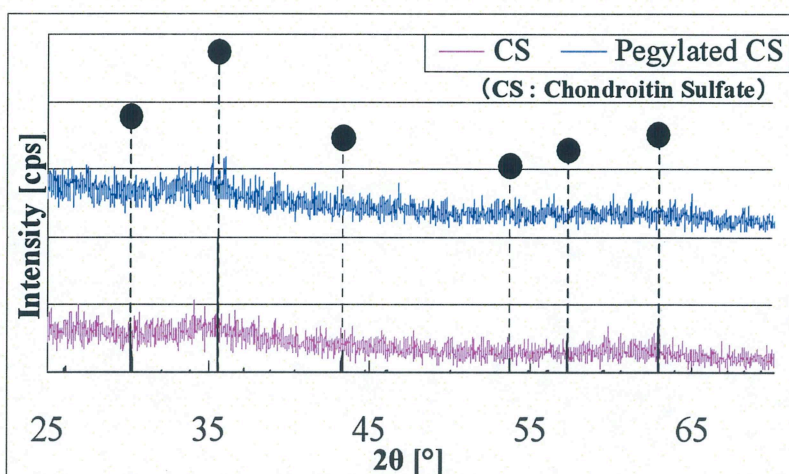


Fig.6.8 XRD patterns at synthesis pH=4

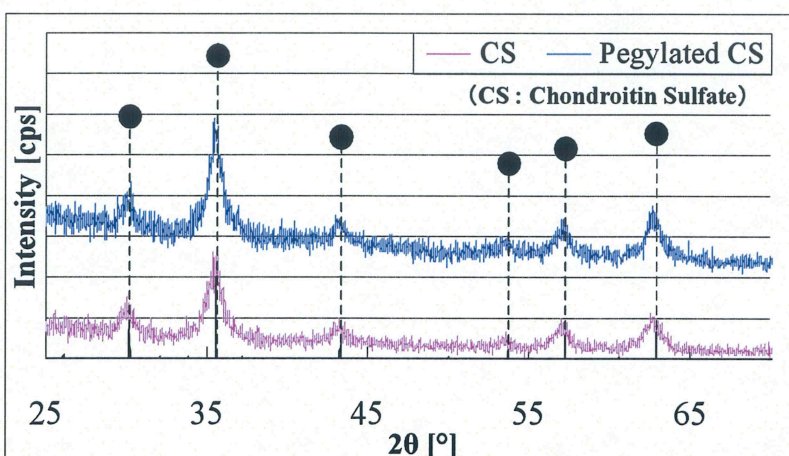


Fig.6.9 XRD patterns at synthesis pH=9

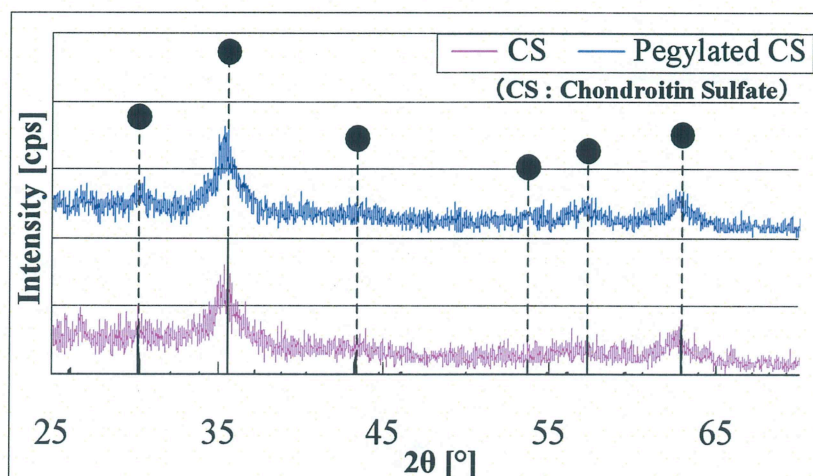


Fig.6.10 XRD patterns at synthesis pH=6

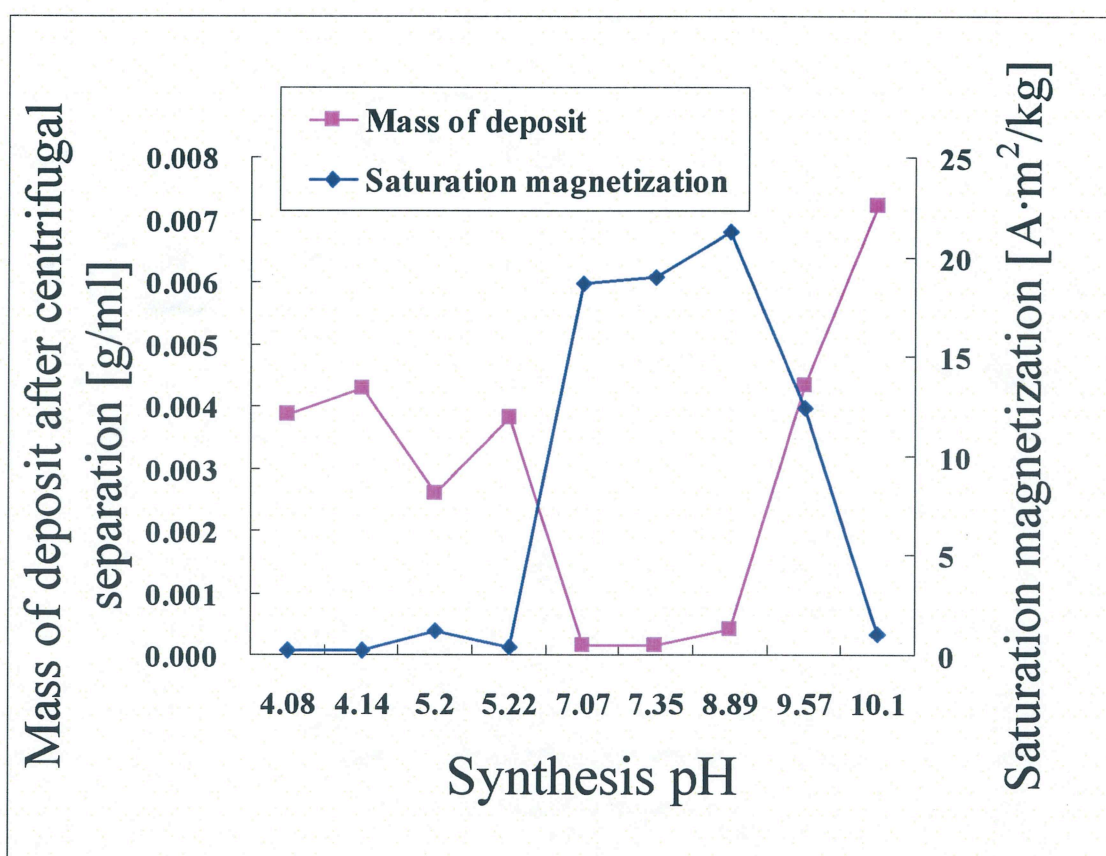


Fig.6.11 Relation of magnetic nanoparticles coated with chondroitin sulfate among synthesis pH, mass of deposit after centrifugal separation and saturation magnetization

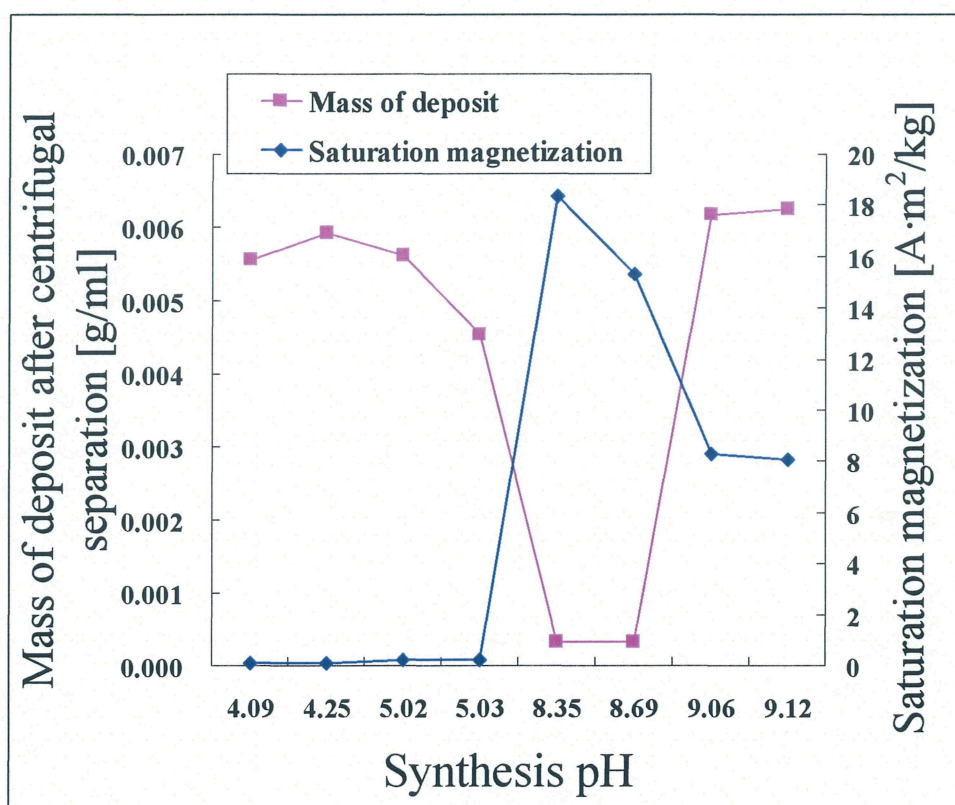


Fig.6.12 Relation of magnetic nanoparticles coated with chondroitin sulfate among synthesis pH, mass of deposit after centrifugal separation and saturation magnetization

7. 結言

本研究では分散剤にコンドロイチン硫酸を、磁性微粒子にマグヘマイトを用いた糖被膜型磁性流体に、RES による貪食を回避するためのステルス機能を付与させることを視野に入れ糖被膜型磁性流体への PEG 化を試みた。そのために以下の実験を行った。

- ①コンドロイチン硫酸に PEG を付加させた PEG 化コンドロイチン硫酸の創製。
- ②PEG 化コンドロイチン硫酸を分散剤に用いた糖被膜型磁性流体の作製による糖被膜型磁性流体への PEG 化。

また、過去の研究より糖被膜型磁性流体の諸特性は分散剤が有する官能基の違いによって変化することが明らかとなっている。そこで PEG 化された糖被膜型磁性流体は通常のコンドロイチン硫酸を用いて作製したものと比べ諸特性が変化している可能性があるため両者の比較検討を行うとともに最適合成条件の検討を行った。その結果以下の知見が得られた。

① PEG 化コンドロイチン硫酸の合成

縮合材に DCC を用いて脱水縮合することでコンドロイチン硫酸が有するカルボキシル基 ($-\text{COOH}$) と PEG メチルエーテルが有する水酸基 ($-\text{OH}$) がエステルを形成し、両者が結合した PEG 化コンドロイチン硫酸が創製された。

② PEG 化糖被膜型磁性流体の特性

合成時 pH を種々変化させた試料を作製し PEG 化の有無による特性の違いを比較するとともに、合成時 pH による特性の変化を調査した。

(a) 磁気特性の変化

(a)-1 中性領域

コンドロイチン硫酸および PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料の間に大きな差異は見られなかった。また、両者とも TEM 写真、X 線回折結果からコアにはマグヘマイトが生成され、軟磁性材料特有の磁気特性を示した。

(a)-2 低 pH 領域

コンドロイチン硫酸および PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料の間に大きな差異は見られなかった。また、両者とも TEM 写真、X 線回折結果からコアには磁化率の低いヘマタイトが生成され、磁化されにくい特性となった。

(a)-3 高 pH 領域

コンドロイチン硫酸および PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料の間に大きな差異は見られなかった。また、両者とも TEM 写真、X 線回折結果からコアにはマグヘマイトが生成され、軟磁性材料特有の磁気特性を示した。

(b) 飽和磁化値の変化

(b)-1 中性領域

コンドロイチン硫酸および PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料の間に大きな差異

は見られなかった。コアに強磁性体で高い磁化率を有するマグヘマイトが生成されており、その結晶性も他の pH 領域での試料と比べて高くなったため最も飽和磁化値が高くなった。

(b)-2 低 pH 領域

コンドロイチン硫酸および PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料の間に大きな差異は見られなかった。中性領域から合成時 pH が低くなるにつれて結晶性は徐々に低下していき、コアにも磁化率の低いヘマタイトが生成されていたため飽和磁化値は低下傾向を示した。

(b)-3 高 pH 領域

コンドロイチン硫酸、PEG 化コンドロイチン硫酸のいずれを用いた試料においても溶液試料中の微粒子濃度の低下により、中性領域から合成時 pH が高くなるにつれて飽和磁化値は低下傾向を示した。また、PEG 化コンドロイチン硫酸を用いた試料では PEG メチルエーテルの結合によりカルボキシル基が消失したため、コンドロイチン硫酸を用いた試料に比べ吸着力を維持できる領域が中性側に縮小し、分散能力を維持できる領域も縮小したため飽和磁化値低下の度合いは大きくなった。

(c) コロイド径の変化

(c)-1 中性領域

コンドロイチン硫酸、PEG 化コンドロイチン硫酸のいずれを用いた試料においても静電的斥力や高分子吸着層による立体障害効果が適切に働くことで粒子の分散は安定しコロイド径が小さくなった。

(c)-2 低 pH 領域

コンドロイチン硫酸、PEG 化コンドロイチン硫酸のいずれを用いた試料においても溶液試料中の微粒子濃度が低くなり、相対的に高分子の濃度は高くなったために凝集が起これコロイド径は大きくなった。

(c)-3 高 pH 領域

コンドロイチン硫酸、PEG 化コンドロイチン硫酸のいずれを用いた試料においても低 pH 領域でのコロイド径の増加のメカニズムと同様の現象で凝集が起これコロイド径は大きくなった。

本研究では PEG 化コンドロイチン硫酸の創製および PEG 化コンドロイチン硫酸を分散剤に用いた PEG 化糖被膜型磁性流体の創製に成功したと考える。また、pH=7 付近で作製した試料では PEG 化による特性の悪化は認められない。さらに、pH=7 付近で作製した試料は飽和磁化値が最も高くなり、コロイド径が 200 [nm]以下になる。よって、PEG 化糖被膜型磁性流体の最適合成 pH は pH=7 付近である。

以上から、本研究で得られた結果はがん治療において診断および治療が可能な新材料開発への一助になると考えられる。

参考文献

- (1) 武富荒, 近角聡信著; 磁性流体: 基礎と応用
- (2) 日本シェーリング株式会社; リゾビスト 審査報告書
- (3) 青木 伊知男, Rumiana Bakalova: DDS による MR 分子イメージングへ. DDS 23: 61-68. 2008
- (4) KAWASHIMA, Yoshiaki Design of a Nanocomposite Praticulate Drug Delivery System, 岐阜薬科大学紀要 pp.1-11 2005
- (5) Needham D., McIntosh T. J., Lasic D. D. "Repulsive interactions and mechanical stability of polymer-grafted lipid membranes "Biochemica et Biophysica Acta , 1108 , pp40-48 (1992)
- (6) Judith Senior, Cristina Delgado, Derek Fisher, Colin Tilcock, Gregory Gregoriadis , "Influence of surface hydrophilicity of liposomes on their interaction with plasma protein and clearance from the circulation: Studies with poly(ethylene glycol)-coated vesicles ", Biochemica et Biophysica Acta , 1062 , pp77-82 (1991)
- (7) Aleksander L. Klibanov, Kazuo Maruyama, Anne Marie Beckerleg, Vladimir P. Torchilin, Leaf Huang "Activity of amphipathic poly(ethylene glycol) 5000 to prolong the circulation time of liposomes depends on the liposome size and is unfavorable for immunoliposome binding to target" Biochemica et Biophysica Acta , 1062 , pp142-148 , (1991)
- (8) 加藤, 荒井; 超微粒子---その化学と機能--- 朝倉書店 (1993)
- (9) 川村; 超微粒子とは何か 丸善 (1992)
- (10) Seiichi Sugimoto, Kazuo Yagi, Masataka Tokuda , "Effects on Particle Diameter and Magnetic Force of Magnetic Ultra-Fine Particle that Depend on Surface-Active Agents and pH Condition in Its Synthesis", IEEE Proceeding of the 2004 International Symposium on Micro-NanoMechatronics and Human Science, pp.213-218, (2004)
- (11) 大木, 大沢, 田中, 千原; 化学辞典 東京化学同人社
- (12) Higashitani, K.: IFPRI Report ARR-11-09, (1988)
- (13) 阿武喜美子, 長谷川栄一; ムコ多糖実験法 南江堂
- (14) 杉本聖一; 博士論文 (三重大) 糖類を被膜したスピネル系フェライトナノ微粒子の合成と磁気特性に関する研究
- (15) Tadao Sugimoto *, Yinsheng Wang, Hiroyuki Itoh, Atsushi Muramatsu, "Systematic control of size, shape and internal structure of monodisperse α -Fe₂O₃ particles", Colloids and Surfaces A, 134, pp265-279 (1998)
- (16) 北原文雄; 分散・凝集の解明と応用技術 (株) テクノシステム

謝辞

本研究を遂行するにあたり，終始懇切丁寧にご指導いただいた首都大学東京 八木一夫教授に深く感謝致します。そして，幅広い分野から本研究の弱い部分に的確な指導をしていただいた稲葉忠司教授に心より感謝致します。化学の分野，機械の分野の両分野から本研究の方針，改善点等を指導して頂いた吉川高正助教授に深く感謝いたします。様々な機器の操作についてご助言，ご協力頂いた中村昇二技官に深く感謝します。また，本研究の礎を築き，本学卒業後も豊富な知識を活かして遠方から指導して頂いた都立産業技術高等専門学校 杉本聖一氏に深く感謝致します。

本研究の立ち上げから完成に至るまでご指導，ご協力頂いた本学地域イノベーション学研究科 久保雅敬教授に心より感謝致します。久保教授には本研究を遂行するにあたり他学科の生徒である私の相談に対しても親身になって受け答えして頂き，数々の助言をして頂きました。また，化学の知識が極めて乏しい私に多彩なアイデアを授けてくださるとともに，種々の実験器具を提供して頂き，さらには機器の操作についてご助言，ご協力して頂きました。久保教授なくして本研究の完遂はありえませんでした。改めて，久保教授に厚く御礼申し上げます。

本研究は磁気工学や生体材料工学等の境界分野に属し，多くの研究者の方々に協力していただきました。振動試料型磁力計を使用させて頂いた本学物理工学科 ナノエレクトロニクス講座の塩見教授，前田技官に深く感謝致します。透過型電子顕微鏡を使用させて頂き，装置の操作について終始懇切丁寧にご指導いただいた本学大学院医学系研究科医学部電子顕微鏡室の小川覚氏に深く感謝致します。X線回折測定装置を使用させて頂き，装置の操作について懇切丁寧にご助言頂いた三重県科学技術振興センターの前川明弘氏に深く感謝致します。

また，公私ともに私を支えてくれた同期の皆様に深く感謝致します。同じチームで常に私の前を歩き目標となってくれた桐生君，他愛のない話で研究室を盛り上げてくれた渡辺君，公私ともに鋭い指摘をしてくれた打田君，夜遅くまでともに研究を行った大井君，他チームでありながら研究方針について相談に応じてくれた山下君，PEG について深い関心を抱いてくれた岡山君，公私ともに相談に応じてくれた中谷君に心より感謝致します。

本研究室での出会いは技術者としての礎を築くにあたり，私を内面的にも，実力的にも成長させてくれました。本研究室で私と関った全ての人に厚く御礼申し上げます。

平成 22 年如月吉日

羽立 雄一