

## 論文の内容の要旨

論文題目 複素電気泳動易動度測定法の開発とそのマイクロレオロジーへの応用

氏名 水野 大介

### 【背景】

水溶液中のコロイド粒子は、低分子イオンの吸着、あるいは解離により電荷を帯び、反対符号の電荷を持つ低分子イオンがその周囲を取り巻いている。このような帯電した表面、界面の電気物性はコロイド分散系の性質を決める点で重要である。そのため、これまでに様々な直流電場を用いた電気泳動易動度測定法によるコロイド粒子の表面電位の計測がなされてきた。また分子種による直流電気泳動易動度の差を利用した蛋白質や DNA 等の荷電性生体高分子の分離、分析法は、近年のバイオテクノロジーの根幹を支える技術として広く利用されている。

それに対して本研究では正弦波電場を印加した試料の電気泳動を広い周波数域で測定するシステムを開発した。印加電場が角周波数 $\omega$ の正弦波電場の場合、易動度は印加電場 $E_0\cos(\omega t)$ に対する位相遅れ $\delta$ を含んだ複素易動度 $\mu^*$  ( $=\mu\exp(i\delta)$ )として表される。この $\mu^*$ の周波数スペクトルを測定することにより表面電位のみならず、コロイド粒子界面の電氣的ダイナミクスや生体高分子の分離の機構に関するより詳細な知見を得ることが可能になる。さらに本研究では、電氣的な特性がよく分かっている粒子をプローブとして用いることで、その逆数に比例する量として周囲の媒質の局所的な粘弾性的な性質（マイクロレオロジー）を得ることができた。

### 【開発したシステム】

本研究では複素電気泳動易動度を求めるのに、動的光散乱法を用いた。一般に動的光散乱法では測定試料にレーザー光を入射し、散乱光の強度揺らぎを特定の方向で検出する。コロイド粒子分散系にレーザー光を照射した際、散乱ベクトル $q$ をもつ方向に散乱された光の電場 $E_S$ は $E_S=E_{S0}\sum_n\exp\{i(qr_n-\omega t)\}$ で与えられる。ここで $E_{S0}$ は一粒子による散乱振幅、 $\omega$ は光周波数、 $r_n$ は各コロイド粒子の重心位置である。また交流電場印加下での $r_n$ の時間変化は、ブラウン運動に伴うランダムな変位 $c$ と電気泳動による変位 $x=\mu E_0\sin(\omega t+\delta)/\omega$ の和で与えられる。ここで $E_0$ は印加電場の振幅、 $\omega$ は角周波数である。散乱電場は入射光から分け取った参照光電場 $E_L$ に対してこの変位分だけ位相変調されているので、これをヘテロダイン検出したときの信号強度 $E_L E_S^*+E_L^* E_S$ は、 $\cos\{q(c+x)\}=\sum_n J_n(z)\{\cos(qc)\cos\{n(\omega t+\delta)\}-\sin(qc)\sin\{n(\omega t+\delta)\}\}$ に比例する。ただし $z=q\mu E_0/\omega$ 、 $q$ は散乱波数、 $J_n(z)$ は $n$ 次の Bessel 関数である。ここ

で  $\cos(qc)$ ,  $\sin(qc)$  はブラウン運動に伴い平均値 0 のまわりでランダムに変動するため、その相関時間  $1/Dq^2$  ( $D$  はコロイド粒子の拡散定数) たてば複素易動度の情報は失われてしまい、長時間積算することにより S/N を向上させることができない。また、電場を印加した試料中に生じる電場や温度の不均一性のためにコロイド粒子は容易にドリフト運動するため、このドリフト運動に伴う信号強度の大きな揺らぎの中から複素電気泳動易動度の情報を抽出することができない。以上の理由で散乱光のパワースペクトルや相関関数を直接的に計測することにより複素易動度を求めることは困難であった。そこで本研究では 1 次と 2 次高調波の信号成分  $J_1(z)\sin(qc)\sin(\omega t + \delta)$ 、 $J_2(z)\cos(qc)\cos(2\omega t + 2\delta)$  をバンドパスフィルターを用いて抜き出し、これをアナログ 2 乗演算した。これによりブラウン運動やドリフト運動に影響されない成分  $1/4J_1(z)^2\cos(2\omega t + 2\delta)$ 、 $1/4J_2(z)^2\cos(4\omega t + 4\delta)$  をロックイン検出することができる。複素易動度の位相遅れ  $\delta$  はロックインの出力として直接得られ、また絶対値  $\mu$  は 1 次と 2 次高調波信号の強度の比として得られる。複素易動度測定系の概略図を図 1 に示す。この手法は測定時間を延ばすことでノイズが除去されるため S/N が大幅に向上し、従来困難であった高周波域や、散乱の強い媒質中での測定も可能である。また現状では測定周波数は 50kHz 以下に限られているが、これは単に用いる機器の性能によって制限されているにすぎず、原理的には MHz 域の測定も十分に可能である。

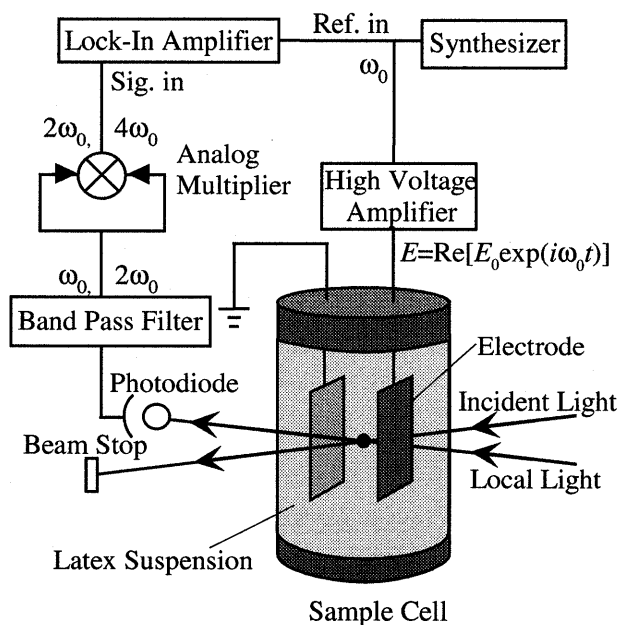


図 1 複素易動度測定系の概略図

### 【荷電コロイド粒子の複素易動度スペクトルの測定】

開発したシステムのテストを兼ね、球状コロイド粒子の複素電気泳動易動度スペクトルを測定した。粒径  $0.6 \mu\text{m}$  のラテックス粒子を水溶液中に分散させた希薄溶液を用いた測定例を図 2 に示す。図中の破線は大塚電子製 ELS-800 を用いて測定した直流易動度であり、複素電気泳動易動度の低周波域における値にほぼ一致している。また 10kHz を超える周波数域と 100Hz 近辺に緩和挙動 (位相遅れ) が観測された。

外部電場を印加すると、コロイド粒子の周辺 (電気 2 重層) に存在する逆符号の低分子イオン (カウンターイオン) の分布が偏って分極するため、印加

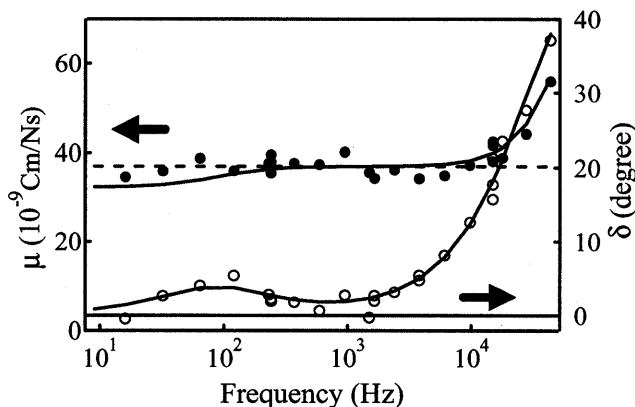


図 2 希薄溶液中におけるコロイド粒子の複素易動度スペクトル

電場と逆向き方向の電場が生じる。その結果コロイド粒子が感じる実効的な電場が低周波域で減少するために複素易動度の緩和が観測される。理論的には電気2重層の分極の仕方には殆ど独立とみなすことのできる2つのメカニズムが存在すると予測されている。一つめは図2の10kHz以上の高周波域に観測された緩和挙動に対応しており、これは電気的特性に不均一が存在する試料において一般的に存在する、Maxwell-Wagner緩和と呼ばれる界面分極機構である。もう一つはカウンターイオンのdiffusiveな輸送によるいわゆる濃度分極であり、これは100Hz近辺に観測された位相遅れに対応している。図の実線は2つのデバイ緩和を仮定したあてはめ曲線である。観測された高周波緩和の緩和強度は理論的な予測よりも大きく、これまでコロイド粒子表面に強く吸着されているため動かないと考えられてきたずり面よりも内側に存在するカウンターイオンが、実は高周波域で導電性に寄与していることを示している。従来の誘電緩和法による希薄コロイド試料のMaxwell-Wagner効果の測定では、水溶液の誘電率、導電率と比較して緩和強度が大変小さいため、この”anomalous surface conduction”と呼ばれる現象の存在の有無を決定することができなかった。それに対して複素易動度スペクトルの測定を行えば希薄試料でも高周波緩和を明瞭に観測することができる。

#### 【複素電気泳動易動度測定法を用いた複雑流体の局所粘弾性測定】

生体をはじめとする複雑流体中の蛋白質やその他の分泌物は複雑な内部構造を持つ周囲の媒質との局所的相互作用のもとで形成されるポテンシャル中を輸送される。プローブとして用いる微小粒子の運動特性を観測することによって求められる周囲の溶媒の局所的な粘弾性は、マイクロレオロジーとよばれ、こうした場の輸送特性を直接的に定量化したものである。

実際には動的光散乱や顕微鏡観察により粒径が既知であるプローブ粒子のブラウン運動を観察することで、アインシュタイン-ストークスの関係から周囲の溶媒の局所的な粘性が求められてきた。しかしながらこうした方法は基本的に直流粘性測定であるため、粘弾性スペクトルという輸送物との相互作用の強さに関わる物性の計測が行えない。また、光の回折限界やバルクの溶媒からの散乱等の問題により、通常はミクロン以上という大きな粒子がプローブとして用いられるため、得られる結果はレオメータを用いて測定される通常のマクロ粘性と本質的に異なるものではない。

それに対して本研究で開発した複素易動度測定法を用いればこのような問題を解消する新しいマイクロレオロジーの測定を行うことができる。つまり電気的特性が既知であるコロイド粒子をプローブとして用いれば、その複素易動度に反比例する量として周囲の溶媒の粘弾性を求めることができる。いわばelectrophoretic microrheologyと呼べるこの手法は散乱光の交流電場応答成分のみを抽出するため、1) 複素粘弾性の周波数スペクトルと拡散定数が両方得られる、2) 散乱の強い媒質中でもナノスケールの微小粒子をプローブとすることが可能である、3) 泳動振幅に至ってはナノメートル未満ですむため測定試料に余計な擾乱を与えない、等の利点がある。特に、周囲の溶媒の内部構造（例えば高分子溶液における絡み合い点間距離）の大きさよりも小さな粒子をプローブとした際には、レオメータを用いて測定されるマクロ粘弾性とは本質的に異なった物性が観測されると期待される。

本研究では、非イオン性界面活性剤2分子膜からなるラメラ構造を持つ複雑流体中にコロイド粒子を分散させてその複素易動度スペクトルの測定を行った。非イオン性界面活性剤が形成するラメラ相は膜どうしのぶつかりあいによる立体斥力によってその構造が安定化されており、濃度と、膜の曲率弾性率により定まる2つの大きさの構造が存在する。一つめは膜間隔と膜のぶつかりあい距離であり、これらは本研究で用いた曲率弾性率が熱エネルギー程度の極めて柔らかい膜ではほぼ同じ程度の長さである

ことが知られている。従って膜厚 $\delta$ および膜濃度 $\phi$ を用いて $\delta/\phi$ と簡単に見積もることができる。さらに長距離の空間スケールでラメラは配向の相関を失い、折れたたまった構造をとることが電子顕微鏡等を用いた観察により確認されている。本研究で用いた試料では膜の曲率弾性率から見積もられる理論的な配向の相関長は約 500nm 程度であると考えられる。試料としては  $C_{12}E_5$ 、ヘキサノール、水の 3 成分からなるラメラ相に半径 21nm の粒子をプローブとして分散させたものを用い、ラメラ相の膜間隔は 50nm~130nm と、プローブ粒子の粒径よりも大きい界面活性剤濃度域で測定を行った。

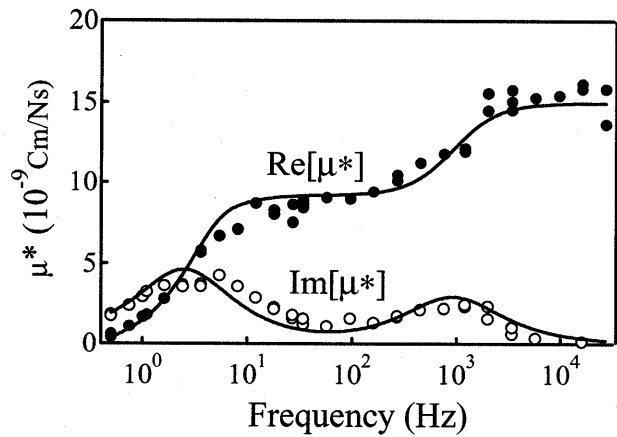


図3 ラメラ中に分散したコロイド粒子の複素電気泳動易動度スペクトル

界面活性剤濃度が 4.7% のときの測定例を図 3 に示す。複素電気泳動スペクトルには 2 つの明確な緩和が観測された。実線は 2 つの単一緩和を仮定した当てはめ曲線である。用いたプローブ粒子自身は水中で緩和挙動を示さないため、これらの緩和は溶媒とプローブ粒子の間の何らかの相互作用により、プローブ粒子の周囲に実効的なポテンシャルが形成されているために起きている。そこで観測された易動度スペクトルからポテンシャルの空間スケールを見積もったところ、低周波緩和では配向の相関長に、高周波の緩和では膜間隔（ぶつかり合い距離）にほぼ一致した。つまり緩和をひきおこすポテンシャルの起源はラメラ相における膜構造による立体障害であり、高周波域では膜の間で自由にゆらいでいたコロイド粒子が中間周波数域では膜のぶつかり合い距離にトラップされつつポテンシャルをとり超えながら運動するようになり、最も低周波の領域では配向の相関長程度の領域にほぼ完全にトラップされるため、易動度がゼロにまで緩和している。

本研究ではさらに測定結果の詳細な解析により、高周波緩和のメカニズムは 2 分子膜の間に挿入されたコロイド粒子の周囲に生じる歪み場と密接な関係があることが分かった。ラメラ相の膜間に微小粒子が導入されると、その浸透圧によりラメラ相に歪み場が形成される（図 4）。この歪み場のプロフィールを計算すると、膜に平行方向の歪み場の大きさは膜間隔とほぼ同じであることが分かる。従ってコロイド粒子はこの歪み場の内部では自由に運動することができるのに対して、さらに長い距離を運動するためには周囲の歪み場を引きずらなければならないため高周波緩和が生じていることが分かった。

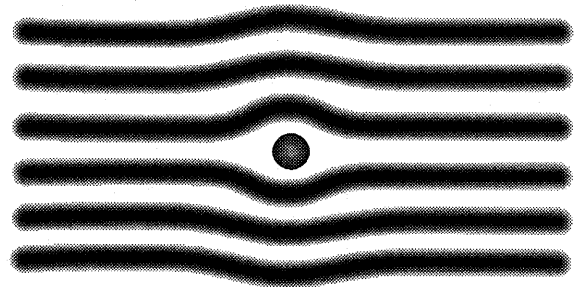


図4 コロイド粒子の周囲に形成される歪み場

他方、低周波の緩和のメカニズムに関しては目下のところ必ずしも明確でないが、恐らくラメラ相に生じる欠陥構造の性質と関係があると予測している。