

ポリ (*N, N*-L-リジンジイルテレフタロイル) マイクロカプセル膜内の固定電荷分布

佐久間 信 至・大 島 広 行・近 藤 保

東京理科大学薬学部 〒162 新宿区市ケ谷船河原町 12

(1989年2月13日 受理)

Fixed-Charge Distribution within the Membrane of Poly (*N, N*-L-lysinediylterephthaloyl) Microcapsules

Shinji SAKUMA, Hiroyuki OHSHIMA and Tamotsu KONDO

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Science University of Tokyo
12, Ichigaya Funagawara-machi, Shinjuku-ku, Tokyo 162

(Received February 13, 1989)

The fixed-charge distribution within the membrane of poly (*N, N*-L-lysinediylterephthaloyl) microcapsules was examined through zeta potential measurements on the microcapsules at varying pH and ionic strengths of the medium. The zeta potential data obtained were analyzed using a membrane model which assumes that the membrane fixed-charges are distributed to a certain depth and the electrolyte ions can penetrate into the charged layer. As a result, it was revealed that the positive fixed-charges arising from the amino groups of the constituent polymers of the microcapsules are distributed uniformly, and that the negative fixed-charges arising from the carboxylic acid groups of the constituent polymers are concentrated on the surface of the membrane.

1. 緒 言

マイクロカプセルは非常に小さい粒子であり、その性質は表面の性質に依存するところが大きく、表面の性質を検討することによってマイクロカプセル自体の性質をある程度予測することができる。また、マイクロカプセルを界面重合法により調製した場合、その大きさ、膜厚、溶質透過性などの物理的性質の類似性からみて生体細胞のモデルとして利用することができる^{1,2)}。しかし、細胞はこれらの性質のほかにさらに電気的性質を持っており、マイクロカプセルを細胞のモデルとして利用する場合、マイクロカプセルはその電気的挙動をも模倣する必要がある。この観点から、我々の研究室では、L-リジンとテレフタル酸ジクロライドとの間の界面重合法により調製したポリ (*N, N*-L-リジンジイルテレフタロイル) マイクロカプセル (以下 PPL マイクロカプセルと略称) を用いて、電気泳動的挙動³⁾、電位差滴定⁴⁾、あ

るいは金属イオン⁵⁾、高分子電解質⁶⁾、そしてタンパク質^{7,8)}との間の相互作用などの研究を行った。しかし、まだ PPL マイクロカプセル膜内の固定電荷分布に関する基礎的な研究は行われていない。

PPL マイクロカプセル膜内の固定電荷分布は、そのゼータ電位の解析に対して適当な膜モデルを利用することによって推測することができる。PPL マイクロカプセル膜は電解質イオンを通すことができ、その膜内には固定電荷を持っている。従って、我々の研究室で近年考察された新しい膜モデル⁹⁻¹³⁾を用いて、ゼータ電位の結果を解析することができる。このモデルは、膜固定電荷がある深さを通して分布し、電解質イオンがその電荷層の中を通ることができると仮定している。本論文では、異なる pH、及びイオン強度の溶媒中において PPL マイクロカプセルのゼータ電位を測定し、新しい膜モデルを用いてそのデータから PPL マイクロカプセル膜内の固定電荷分布を推測した。

2. 理 論

PPL マイクロカプセルの膜は、構成高分子中に存在するカルボキシル基の解離によって通常負に帯電している。また、PPL マイクロカプセルのゼータ電位 ζ (V) は、Smolouchowski の式を用いて電気泳動移動度 u ($\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{V}^{-1}\text{cm}$) から以下のように計算される。

$$\zeta = \frac{u \cdot \eta}{\epsilon_0 \cdot \epsilon_r} \times 10^{-8} \quad (1)$$

(1)式において η ($\text{N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$) は溶媒の粘度、 ϵ_0 は真空の誘電率、 ϵ_r は溶媒の誘電率である。ゼータ電位は PPL マイクロカプセル膜表面からわずかに外側に位置しているすべり面における電位であり、これは表面電位にほぼ等しい。ここで、電解質イオンを通すことができ、濃度 n (単位: M)、原子価 z の電解質溶液中において密度 N M の固定電荷を持つ膜を考える。この時、PPL マイクロカプセルのゼータ電位は外液に対して以下のように表される。

$$\zeta = \frac{kT}{ze} \left(\ln \left[\frac{zN}{2vn} + \left\{ \left(\frac{zN}{2vn} \right)^2 + 1 \right\}^{1/2} \right] + \frac{2vn}{zN} \left[1 - \left\{ \left(\frac{zN}{2vn} \right)^2 + 1 \right\}^{1/2} \right] \right) \quad (2)$$

(2)式において k はボルツマン定数、 T は絶対温度、 e は電気素量、 z は解離基の原子価である¹⁴⁾。我々は、以上の式及び条件を用いてゼータ電位の結果から PPL マイクロカプセル膜内の固定電荷分布を推測した。

3. 実験方法

3.1 PPL マイクロカプセルの調製

PPL マイクロカプセルは以下に示すような界面重合法を用いて調製した³⁾。また、その時の反応は室温下で行った。

1.5 M L-リジンと 2.5 M 炭酸ナトリウムの水溶液 10 ml を、ソルビタントリオレエート 30 (SO-30) を含むシクロヘキサンとクロロホルム (3:1) の混合有機溶媒中にケミスターラー (東京理化機器(株)モデル B-100) を用いて分散した。この時、PPL マイクロカプセルの大きさを調整するため、SO-30 の濃度及びケミスターラーのかくはん速度を目的に応じて調節した。25 分後、かくはんしながら混合有機溶媒中に溶解した 0.1 M テレフタル酸ジクロライド溶液 100 ml をエマルジョン中に加え、その後 90 分間かくはんし続けた。次に、シクロヘキサン 100 ml を混合液に加えて L-リジンとテレフタル酸ジクロライドとの間の界面重合反応を停止した。調製された PPL マイクロカプセルは、遠心分離器を用いて混合液中から分離し、続いてシクロヘキサン、2-ブ

ロパノール、エタノール、メタノール、蒸留水の順に溶媒置換した。最終的に蒸留水中に分散された PPL マイクロカプセルは、メッシュを用いて平均粒径がそれぞれ 13.5, 29.4, 45.2, 64.0 μm の 4 種類のフラクションに分類した。また、それぞれの平均膜厚は、1.5, 1.8, 2.3, 2.6 μm であった。

3.2 PPL マイクロカプセルのゼータ電位の測定

各フラクションの PPL マイクロカプセルを、それぞれ緩衝液中に分散した。30 個の PPL マイクロカプセルの電気泳動移動度をシトフェロメーター (カールツァイス, 西ドイツ) を用いて 25°C において測定し、(1)式を用いてゼータ電位を求めた。各緩衝液は、

KCl-HCl (pH 1.2~1.9)

CH₃COONa-CH₃COOH (pH 3.5)

Na₂HPO₄-KH₂PO₄ (pH 5.6~7.0)

Na₂CO₃-NaHCO₃ (pH 9.7)

Na₂HPO₄-NaOH (pH 11.0~12.0)

を用いた。また、緩衝液のイオン強度は、構成している電解質の濃度を変えることによって調整した。

4. 結果と考察

4 種類のフラクションに粒径別に分類された PPL マイクロカプセルのゼータ電位は、異なる pH 及びイオン強度の緩衝液中において測定した。また、この時測定は Fig. 1 に示すように PPL マイクロカプセルの電気泳動速度に対して電場の強さが比例する 20 V/cm 以下で行った。Fig. 2 に平均粒径 29.4 μm の PPL マイクロカプセルの各 pH における溶媒のイオン強度に対するゼータ電位の変化を示す。図に示すように、各イオン

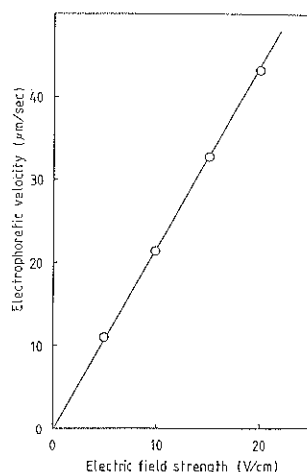


Fig. 1 The electrophoretic velocity of PPL microcapsules as a function of the strength of applied electric field.

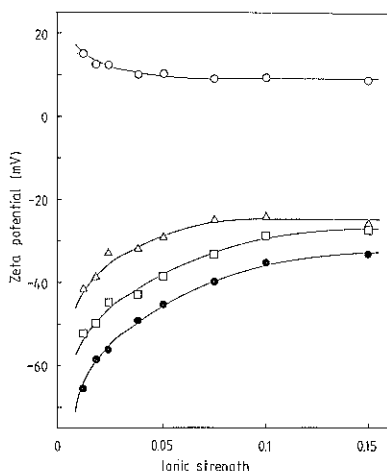


Fig. 2 The zeta potential of PPL microcapsules as a function of ionic strength of the medium at different pH.

○: pH=1.9, △: pH=5.6, □: pH=9.7,
●: pH=12.0

強度において溶媒の pH を低下させると、PPL マイクロカプセルの構成高分子中に存在しているカルボキシル基の解離の程度が減少することによって、ゼータ電位は増加した。また、各 pH において溶媒のイオン強度を低下させると、ゼータ電位の絶対値は増加した。しかし、溶媒の pH を極端に低下させると、PPL マイクロカプセル膜表面は正に帯電した。PPL マイクロカプセルは通常負に帯電しているが、この場合カルボキシル基の解離が抑制されるとともにアミノ基の解離が促進されることから、PPL マイクロカプセル膜表面は正味、正に帯電するのであろう。また、PPL マイクロカプセルの粒径及び膜厚の影響は確認されなかった。PPL マイクロカプセル膜は電解質イオンを通すことができるため、膜内にもまた電気二重層が形成される。電気二重層の厚さは以下に示す Debye-Hückel のパラメータ κ (m⁻¹) の逆数で見積ることができる。

$$\kappa = (2 \times 10^3 n N_A v^2 e^2 / \epsilon_0 \epsilon_r k T)^{1/2} \quad (3)$$

(3)式において N_A はアボガドロ数である。しかし、溶媒の塩濃度から(3)式を用いて計算される電気二重層の厚さ $1/\kappa$ は $7.9 \text{ \AA} \leq 1/\kappa \leq 27 \text{ \AA}$ の範囲であり、これは PPL マイクロカプセルの膜厚の約 1/1000 である。いいかえると、 $1/\kappa$ より深い位置に存在している膜固定電荷は溶媒のシールド効果によりゼータ電位の値には反映されない。以上のことから、PPL マイクロカプセル膜表面付近における固定電荷分布を考察する場合、粒径、及び膜厚の影響は考慮に入れる必要がないので、以下に平均粒径 $29.4 \mu\text{m}$ の PPL マイクロカプセルについての

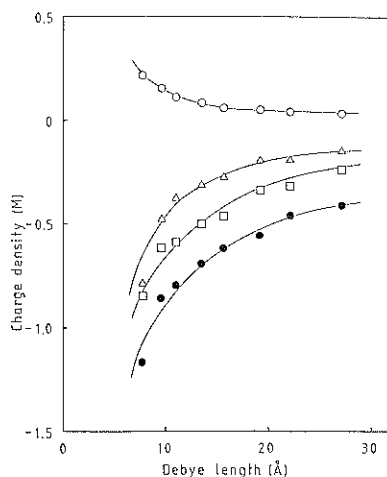


Fig. 3 The charge density in PPL microcapsule membranes as a function of the Debye length of the medium at different pH.

○: pH=1.9, △: pH=5.6, □: pH=9.7,
●: pH=12.0

実験結果を整理する。

Fig. 3 に各 pH における電気二重層の厚さに対する固定電荷密度の変化を示す。固定電荷密度は(2)式を用いてゼータ電位から計算した。この場合、固定電荷密度とは PPL マイクロカプセル膜の単位体積当りの正、及び負の固定電荷の和として表された値である。PPL マイクロカプセルは、その膜内に解離基として L-リジンに由来するカルボキシル基と未反応の末端アミノ基を持っている。膜内のこれらの解離基はポリマー化しているため、溶液状態の L-リジンの解離の変化に必ずしも一致するとは言えないが、我々は大きく変化することはなかろうと考えて、膜内の解離基は L-リジンの解離の変化に類似すると仮定した。Fig. 4 に示すように、L-リジンは pH 5.57 と pH 9.74 とに等電点を持っている。この時、実験を行った pH 5.6 においては、PPL マイクロカプセル膜内のカルボキシル基とアミノ基とはともに完全に解離していると考えられ、溶媒が強アルカリ性になるにつれてアミノ基の解離が抑えられ、最終的にはカルボキシル基のみが完全に解離しアミノ基は全く解離しなくなると考えられる。また、Fig. 5 にイオン強度を 0.1 に調整した溶媒の pH に対する PPL マイクロカプセルのゼータ電位の変化を示す。この時、アルカリ性においてゼータ電位が一定になることから、実験が行われた pH 12.0 においては、カルボキシル基のみが完全に解離しアミノ基は全く解離していないと考えられる。PPL マイクロカプセル膜内の負の固定電荷はカルボキシル基に由来し、正の固定電荷はアミノ基に由来し

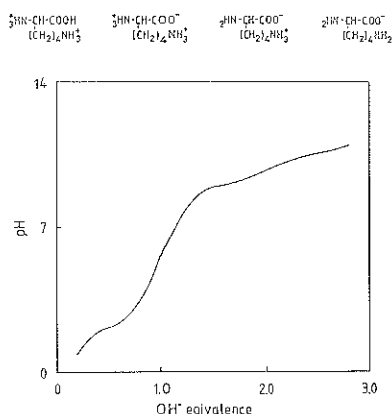


Fig. 4 The degree of dissociation of L-lysine as a function of pH of the medium.

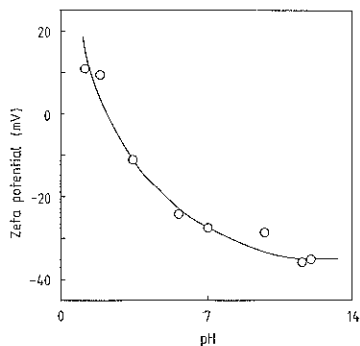


Fig. 5 The zeta potential of PPL microcapsules as a function of pH of the medium.

ている。また、その密度は、それぞれ負の固定電荷密度は pH 12.0 における膜固定電荷の密度で表され、正の固定電荷密度は pH 5.6 と pH 12.0 における膜固定電荷の密度差で表される。以上の条件を用いて Fig. 3 を整理すると、電気 2 重層の厚さに対する完全解離の時の正負の固定電荷密度の近似式は、それぞれ以下のように表すことができる。

$$N_+(1/\kappa) = 0.35 \quad (4)$$

$$N_-(1/\kappa) = -\{1.9 \exp(-1/8 \kappa) + 0.35\} \quad (5)$$

ここで Fig. 6 に (4) 及び (5) 式を用いて表した PPL マイクロカプセル膜内の固定電荷分布のモデルを示す。図から PPL マイクロカプセル膜内の固定電荷分布は以下のように言い表すことができる。正の固定電荷は膜内に均一に分布しているが、負の固定電荷密度は膜表面から約 20 Å の深さまで指数関数的に減少していき、この表面層より深い位置では負の固定電荷は膜内に均一分

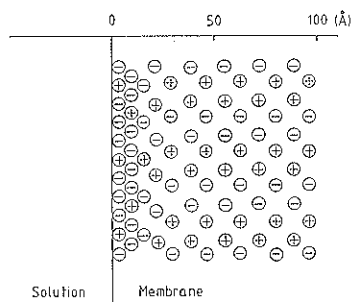


Fig. 6 Schematic representation of predicted fixed-charge distribution within PPL microcapsule membranes.

布し、その密度は正の固定電荷密度に等しくなる。つまり、PPL マイクロカプセルは、その合成時に正負の電荷が膜内から電気的に中和され、最終的に余った多量の負の電荷が膜表面に局在していると考えられる。

文 献

- 1) T. M. S. Chang: Artificial cells, ed. by Charles C. Thomas, Springfield, Ill, 1972.
- 2) T. Kondo: "Surface and Colloid Science", Vol. 10, ed. by E. Matijevic (Plenum, New York, 1978).
- 3) Y. Shigeri, M. Tomizawa, K. Takahashi, M. Koishi and T. Kondo: Can. J. Chem. **49**, 3623 (1971).
- 4) K. Takahashi and T. Kondo: Colloid Polym. Sci. **255**, 357 (1977).
- 5) K. Takahashi, M. Koishi and T. Kondo: Kolloid Z. Z. Polym. **251**, 232 (1973).
- 6) S. Suzuki and T. Kondo: J. Colloid Interface Sci. **67**, 441 (1978).
- 7) S. Suzuki and T. Kondo: J. Colloid Interface Sci. **77**, 280 (1980).
- 8) S. Sumida, S. Jomura, M. Arakawa and T. Kondo: Progr. Colloid Polym. Sci. **68**, 133 (1983).
- 9) H. Ohshima and S. Ohki: Biophys. J. **47**, 673 (1985).
- 10) H. Ohshima, K. Makino and T. Kondo: J. Colloid Interface Sci. **113**, 369 (1986).
- 11) H. Ohshima and T. Kondo: J. Theor. Biol. **124**, 191 (1987).
- 12) K. Makino, H. Ohshima and T. Kondo: Colloid Polym. Sci. **265**, 336 (1987).
- 13) K. Makino, H. Ohshima and T. Kondo: Colloid Polym. Sci. **265**, 915 (1987).
- 14) H. Ohshima and T. Kondo: J. Colloid Interface Sci. **116**, 305 (1987).