

## 転相温度乳化法による有機色素を固定化したナノカプセルの調製

亀澤 美春 (鹿児島大学 大学院理工学研究科, k6875985@kadai.jp)  
 木下 智之 (山本化成株式会社, Satoshi.Kinoshita@yk.mitsuichemicals.com)  
 高木 斗志彦 (山本化成株式会社, Toshihiko.Takaki@yk.mitsuichemicals.com)  
 大角 義浩 (鹿児島大学 大学院理工学研究科, ohzuno@cen.kagoshima-u.ac.jp)  
 武井 孝行 (鹿児島大学 大学院理工学研究科, takei@cen.kagoshima-u.ac.jp)  
 吉田 昌弘 (鹿児島大学 大学院理工学研究科, myoshida@cen.kagoshima-u.ac.jp)

### Preparation of nanocapsules containing organic dye by the phase inversion temperature method

Miharu Kamezawa (Graduate School of Science and Engineering, Kagoshima University, Japan)  
 Satoshi Kinoshita (Yamamoto Chemicals, Inc., Japan)  
 Toshihiko Takaki (Yamamoto Chemicals, Inc., Japan)  
 Yoshihiro Ohzuno (Graduate School of Science and Engineering, Kagoshima University, Japan)  
 Takayuki Takei (Graduate School of Science and Engineering, Kagoshima University, Japan)  
 Masahiro Yoshida (Graduate School of Science and Engineering, Kagoshima University, Japan)

#### 要約

有機色素とポリマーを組み込んだナノカプセルは近年では多くの関心を集めている。本研究では、低エネルギー乳化法の一つである転相温度乳化 (Phase Inversion Temperature, PIT) 法を用いたナノカプセル化有機色素を調製した。PIT法では、ポリオキシエチレン型非イオン性界面活性剤の温度特性を利用することで微細な液滴を有するO/Wナノエマルジョンを調製することができる。またこの液滴を熱重合させることでナノカプセルを形成させることができる。我々はポリエチレングリコールオクタデシルエーテル (Brij S20) /エチレングリコールジメタクリレート (EGDMA) /超純水系のエマルジョンを調製し、ナノカプセルを形成させた。さらに、ナノカプセルに有機色素を固定化させることに成功した。

#### キーワード

ナノカプセル, ナノスフェア, ナノエマルジョン, 近赤外線吸収色素, 転相温度乳化法

#### 1. はじめに

ナノスケールで、均一な形状および狭い粒子径分布を有する有機色素とポリマーを組み込んだ複合着色剤であるナノカプセルは近年では多くの関心を集めている (Zhao et al., 2014)。中でも、有機色素を固定化したナノカプセルはインクジェットインクへの広い利用が期待され、開発されてきた (田中, 1999)。インクジェットインクの分散媒体には水系が多く利用されるが、有機色素は疎水性が高いため水の中で凝集体になりやすい。また、微細な粒子ほど表面積が増加し、それに伴って表面エネルギーも増加する。この点においても有機色素は凝集が起こりやすく、安定的に分散させることが難しい。このような有機色素はポリマーに固定化することで、水への分散能を高めることができる (田中, 1999)。

有機色素を固定化したナノカプセルの調製は多数報告されている (Edris et al., 2001; Feczko et al., 2011; Hu et al., 2006; Zhao et al., 2009; Zhao et al., 2014)。ナノカプセルの調製過程であるナノエマルジョンの主な調製には、高せん断攪拌機や高圧ホモジナイザー、超音波ジェネレーターなどの激しいせん断応力を生み出す機器が用いられている。このような機械的な攪拌を要するナノエマルジョンの調製方法を高エネルギー乳化法という。一方で、高エネルギー乳化法とは別に、系の内部化学エネルギーを利用することで単純な攪拌により微細な液滴を得ることができる方法として低エネルギー乳

法 (Anton et al., 2009; Solans et al., 2012) がある。低エネルギー乳化法の一つに、転相温度乳化 (Phase Inversion Temperature, PIT) 法 (Anton et al., 2009; Shinoda et al., 1964; Solans et al., 2012; 鈴木, 2012) がある。PIT法は、ポリオキシエチレン型非イオン性界面活性剤の特性を利用した微細な液滴を有したナノエマルジョンの調製方法である。ポリオキシエチレン型非イオン性界面活性剤は、親水基であるポリオキシエチレン鎖が温度上昇により脱水和し、水との親和性が減少することで温度上昇とともに親水性から疎水性に変化する (兼井・國枝, 2001)。この特性によりポリオキシエチレン型非イオン性界面活性剤を使用したエマルジョンは、転相温度 (PIT) と呼ばれる温度で、油 (O) が分散相、水 (W) が連続相となるO/W型と逆の形態であるW/O型の転相が生じる。PITにおけるエマルジョンは油と水がどちらも連続相となり、両連続マイクロエマルジョン (図1) と呼ばれる。油と水の界面張力が0になり、界面が無限に伸びて薄い層状になる (鈴木, 2012) といった特徴がある。またその外観は透明性を帯びる (脇田, 2012)。油と水の界面張力が0であることより、単純な攪拌で微細な液滴を形成させることができる。PIT法では、微細な液滴を形成させるとともにPITより20~30℃低温側へ急冷させることで液滴がナノサイズであるO/Wナノエマルジョンを調製することができる (鈴木, 2012)。本研究では油に架橋性モノマーを選択し、PIT法を用いて調製したO/Wナノエマルジョンの液滴を熱重合させることでナノカプセルを調製した。PIT法を利用してナノカプセルを調製した報告 (Alvarado et al., 2017; Spemath et al., 2007; Sasaki et al., 2015) はあるがその報告数は少ない。本研究では初めに、ナノカプセルを調製する

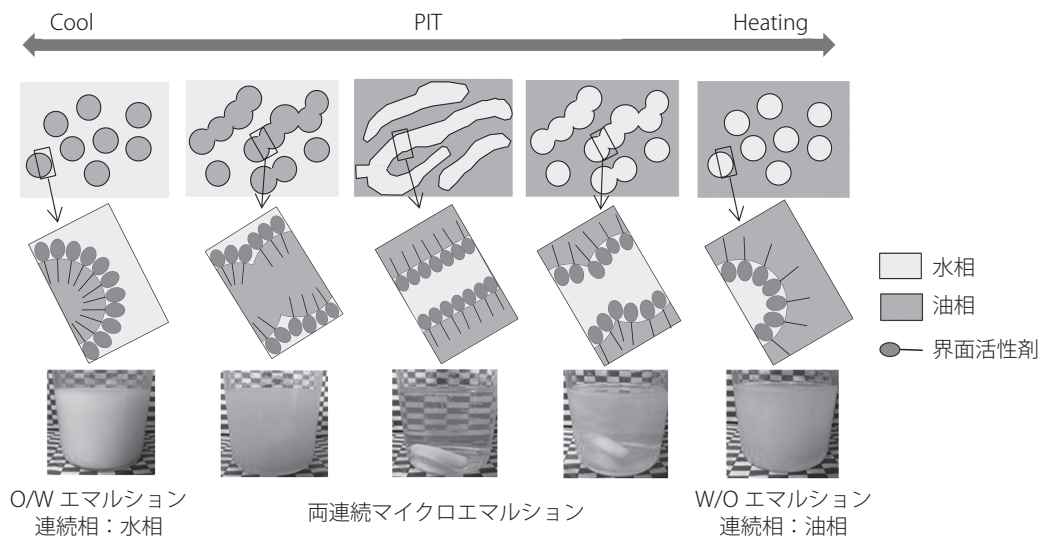


図1：両連続マイクロエマルジョン形成概念図

ための最適なエマルジョン系を調査し、ナノカプセルの調製条件を確立した。さらに、このナノカプセルに有機色素であるフタロシアニン化合物を固定化することを試みた。

## 2. 実験

### 2.1 試薬

エチレングリコールジメタクリレート (EGDMA) は東京化成株式会社製のものを使用した。ポリエチレングリコールオクタデシルエーテル (Brij S20) はShigma-Aldrich製のものを使用した。2,2'-アゾビス[2-(2-イミダゾリン-2-イル)]プロパン (VA-044) は富士フィルム和光純薬株式会社製のものを使用した。有機色素であるPCK-1は山本化成株式会社製のものを使用した。

### 2.2 両連続マイクロエマルジョン形成と PIT の確認

調製条件をそれぞれ表1に示す。活性剤相として界面活性剤であるBrij S20、有機相としてEGDMA、水相として超純水をそれぞれ準備した。Brij S20とEGDMAの重量比は9/1、8/2、7/3、6/4、5/5とした(条件a~e)。全相を混合し、マグネチックスターラーを用いて100 ml容ビーカー中で攪拌した。その後、30~90℃でそれぞれの相状態を観察し、透明もしくは半透明の相(両連続マイクロエマルジョン相)の形成が見られるかの確認を目視で行った。エマルジョンが透明もしくは半透明となった温度をPITと判断した。

表1：両連続マイクロエマルジョンの調製条件

条件	a	b	c	d	e
活性剤相/有機相(重量比)	9/1	8/2	7/3	6/4	5/5
活性剤相 Brij S20 (g)	9	8	7	6	5
有機相 EGDMA (g)	1	2	3	4	5
水相 超純水(g)			60		

### 2.3 ナノカプセルの調製

調製条件を表2に、調製スキームを図2に示す。ナノカプセルの壁材として架橋性モノマーであるEGDMAを使用した。活性剤相であるBrij S20、有機相であるEGDMA、水相である超純水を、マグネチックスターラーを用いて混合した。両条件とも活性剤相と有機相の重量比は7/3とした。条件fでは有機色素であるPCK-1を添加せず、条件gではPCK-1を添加することでナノカプセルに有機色素を固定化させた。混合溶液が透明もしくは半透明状(両連続マイクロエマルジョン相)になるまで昇温を行ったのち、氷浴中で攪拌しながら急冷させることでO/Wナノエマルジョンを形成させた。その後、水溶性重合開始剤であるVA-044を添加し、200 ml容セパラブルフラスコにて窒素雰囲気下で熱重合し、ナノカプセルを調製した。調製したナノカプセルは微量高速冷却遠心機(MX-307 TOMY製)を用いて蒸留水で洗浄した。その後上澄み液を除去した沈降部分を凍結乾燥し、ナノカプセルの乾燥体を回収した。ナノカプセルの回収率は以下の定義式より算出した。

$$R = (Q_{NC}/W) \times 100 \quad (1)$$

表2：ナノカプセルの調製条件

条件		f	g
活性剤相/有機相(重量比)		7/3	
活性剤相	Brij S20 (g)	7	
有機相	EGDMA (g)	3	2.9
	PCK-1 (g)	0.1	
水相	超純水(g)	60	
添加相	VA-044 (g)	0.3	
重合反応条件	攪拌速度(rpm)	450	
	温度(°C)	45	
	時間(h)	48	
	窒素量(ml/min)	40	
理論含有率(wt%)		3.0	

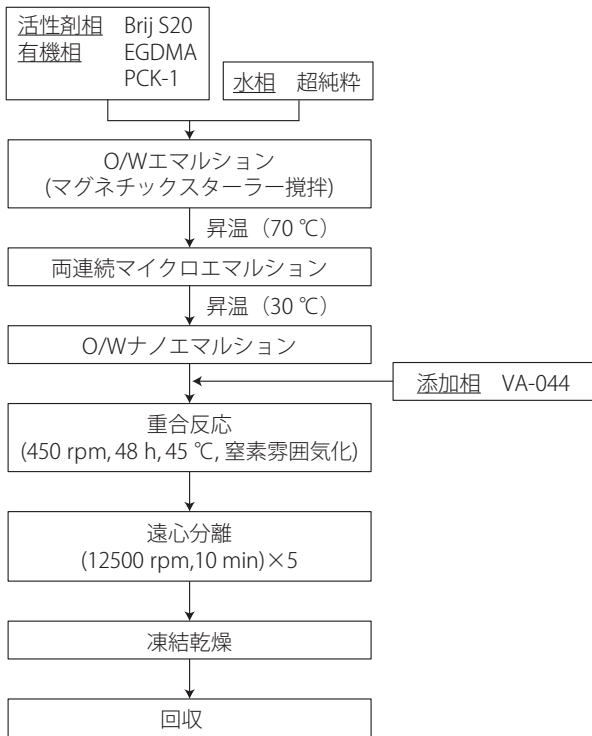


図2：ナノカプセルの調製スキーム

ここでRは回収率 (wt%)、 $Q_{NC}$ はナノカプセルの回収量 (g)、 $W$ は仕込みのナノカプセルの重量 (g)である。

#### 2.4 電界放出形走査電子顕微鏡 (FE-SEM) による形態観察

FE-SEM (S-4100H 日立製) を用いて調製したナノカプセルの形態観察を行った。

#### 2.5 平均粒子径測定

画像解析ソフト DMeasure を用いて FE-SEM 観察画像のナノカプセル 200 個の粒子径を測定することで平均粒子径を算出した。

#### 2.6 ナノカプセルの PCK-1 含有率測定

ナノカプセルの PCK-1 含有率を紫外・可視分光光度計 (UV-1700 SHIMADZU 製) を用いて測定し、以下の定義式より算出した。

$$C = (Q_{PCK-1}/Q_{NC}) \times 100 \quad (2)$$

ここでCはナノカプセルのPCK-1含有率 (wt%)、 $Q_{PCK-1}$ はナノカプセルのPCK-1内包量 (g)、 $Q_{NC}$ はナノカプセルの回収量 (g)である。

### 3. 結果と考察

#### 3.1 両連続マイクロエマルジョン形成と PIT の確認

Brij S20 と EGDMA の重量比を 9/1、8/2、7/3、6/4、5/5 として調製したエマルジョン (条件 a-e) を 30°C から 90°C まで昇温し、各温度における外観写真を図 3 に示す。

Brij S20 と EGDMA の重量比を 9/1、8/2、7/3 としたエマルジョン (条件 a ~ c) において透明もしくは半透明状になった。Brij S20/EGDMA=9/1 では 30 ~ 90 °C で、Brij S20/EGDMA=8/2 では 55 ~ 80 °C で、Brij S20/EGDMA=7/3 では 68 ~ 75 °C で透明もしくは半透明状となり両連続マイクロエマルジョン相が得られたと考えられる。この中でナノカプセルの壁材となる EGDMA の量が最も多い Brij S20/EGDMA=7/3 の条件がナノカプセルの調製条件として最適であると考えられる。

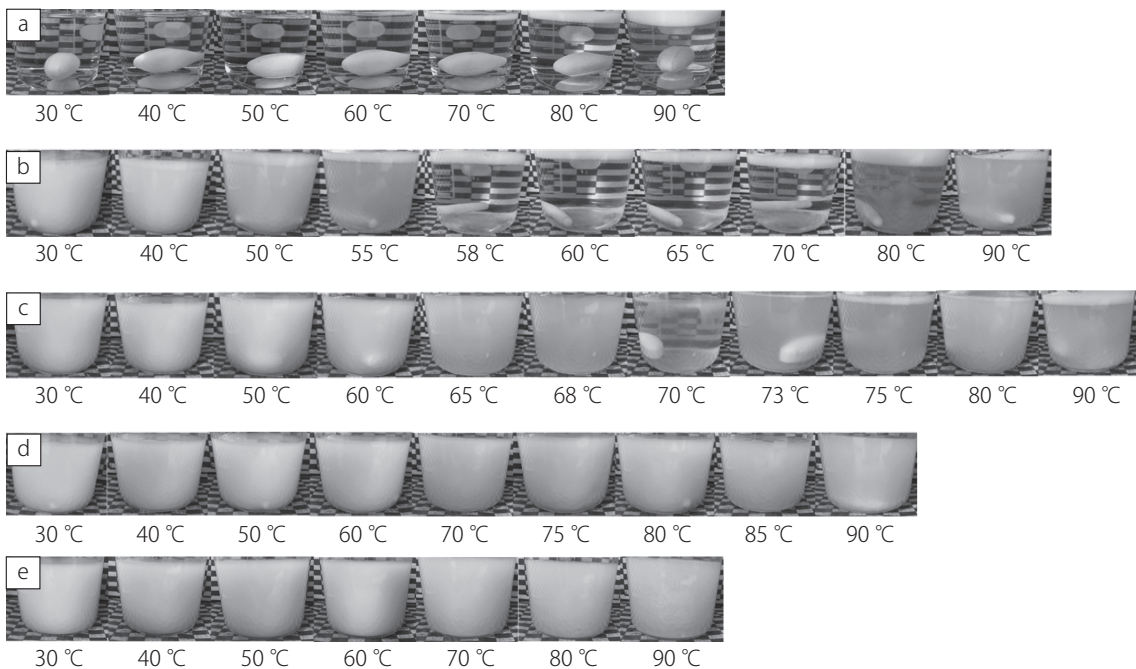


図3：(a) Brij S20/EGDMA=9/1、(b) Brij S20/EGDMA=8/2、(c) Brij S20/EGDMA=7/3、(d) Brij S20/EGDMA=6/4、(e) Brij S20/EGDMA=5/5の重量比で調製したエマルジョンのPIT確認結果

### 3.2 ナノカプセルの FE-SEM 観察結果

ナノカプセルのFE-SEM観察画像を図4に示す。PCK-1の添加の有無に関わらず、ナノカプセルは球形であることを確認できた。

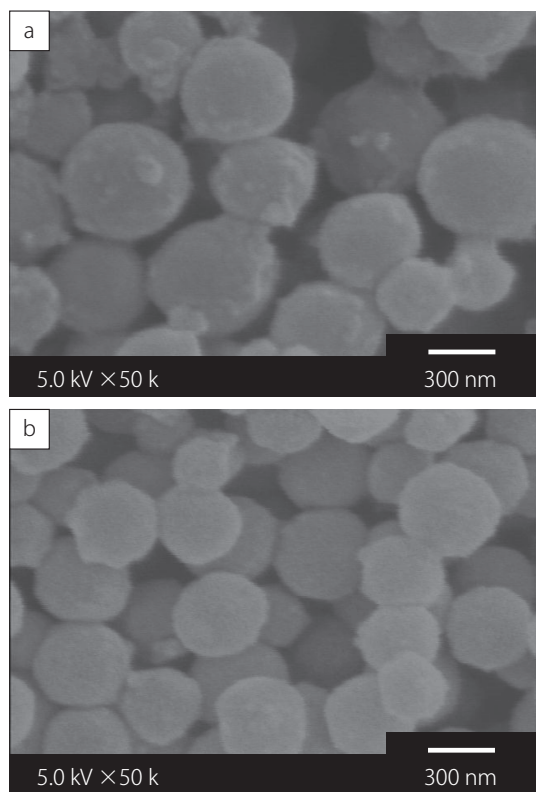


図4: (a) PCK-1添加無し(条件f)、(b) PCK-1添加有り(条件g)の条件で調製したナノカプセルのFE-SEM観察画像

### 3.3 ナノカプセルの平均粒子径測定結果

ナノカプセルの平均粒子径を表3に示す。PCK-1を添加せずに調製したナノカプセル(条件f)の平均粒子径は236 nmであり、PCK-1を添加して調製したナノカプセル(条件g)の平均粒子径は198 nmであった。PCK-1の有無に関わらず有機相の体積はほぼ一定であるため、PCK-1はO/Wナノエマルジョンの液滴の形成およびその大きさに関与せず、ナノカプセルの大きさにも影響しなかったと考察する。

### 3.4 ナノカプセルの回収率測定結果

ナノカプセルの回収率を表3に示す。PCK-1を添加せずに調製したナノカプセル(条件f)の回収率は0.82 wt%、PCK-1を

表3: 条件f～gにおいて調製したナノカプセルの平均粒子径・回収率・PCK-1含有率

条件	f	g
平均粒子径(nm)	236 ± 36	198 ± 35
回収率(wt%)	0.82	0.92
含有率(wt%)	—	30.2

注：—はPCK-1を添加していないため測定していない。

添加して調製したナノカプセル(条件g)の回収率は0.92 wt%といずれも非常に低かった。仕込みのEGDMAおよびPCK-1のナノカプセル形成が不十分であった点や、遠心分離時に沈降しなかった比較的小さなナノカプセルを上澄み液として除去してしまった点の両方が原因であると考察する。

### 3.5 ナノカプセルの PCK-1 含有率測定結果

PCK-1を添加して調製したナノカプセル(条件g)のPCK-1の含有率を表3に示す。ナノカプセルは仕込みのEGDMA、仕込みのPCK-1、仕込みのVA-044の総重量に対してPCK-1の含有量が3.0 wt%となるように調製した。しかし、調製したナノカプセルのPCK-1含有率は理論値より非常に高い30.2 wt%であった。仕込みのEGDMAおよびPCK-1のナノカプセル形成が不十分であり、理論値よりずれが生じたと考えられる。結果より、ナノカプセルにPCK-1が固定化されていることを確認できた。

## 4. まとめ

Brij S20/EGDMA/超純水系のエマルジョンを調製し、Brij S20とEGDMAの重量比を7/3とした条件でPITが70 °C前後であることを確認した。この条件において、PIT法を用いてO/Wナノエマルジョンを調製し、液滴であるEGDMAを熱重合させることでナノカプセルを調製することができた。またナノカプセルに有機色素であるPCK-1を固定化することができた。ナノカプセルの平均粒子径はPCK-1の有無に関わらず約200 nmであり、PCK-1はO/Wナノエマルジョンの液滴の形成およびその大きさに関与せず、ナノカプセルの大きさにも影響しなかったと推測する。回収率は1 wt%未満と非常に低い値であった。仕込みのEGDMAおよびPCK-1のナノカプセル形成が不十分であった点や、遠心分離時に沈降しなかった比較的小さなナノカプセルを上澄み液として除去してしまった点の両方が原因であると考察できる。今後ナノカプセル調製時の重合条件や回収方法に関してさらなる検討が必要である。

## 引用文献

- Alvarado, A. G., Montelongo, R. H., Rabelero, M., Arellano, J., Puig, J. E. and Arellano, M. (2017). Polymerization of alkyl methacrylate nanoemulsions made by the phase inversion temperature method. *Colloid and Polymer Science*, Vol. 295, 2243-2249.
- Auton, N. and Vandamme, F. T. (2009). The universality of low-energy nano-emulsification. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol. 377, 142-147.
- Edris, A. and Bergnstahl, B. (2001). Encapsulation of orange oil in a spray dried double emulsion. *Nahrung/Food*, Vol. 45, No. 2, 133-137.
- Feczko, T., Varga, O., Kovacs, M., Vidoczy, T. and Voncina, B. (2011). Preparation and characterization of photochromic poly(methyl methacrylate) and ethyl cellulose nanocapsules containing a spirooxazine dye. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, Vol. 222, 293-298.

- Hu, Z. K., Xue, M. Z., Zhang, Q., Sheng, Q. R. and Liu, Y. G. (2006). Controlled Preparation of Nanocolorants via a Modified Miniemulsion Polymerization Process. *Journal of Applied Polymer Science*, Vol. 104, 3036-3041.
- 兼井紀子・國枝博信 (2001) . 界面活性剤分子膜の曲率制御とキュービック液晶乳化への応用. 日本化粧品技術者会誌, Vol. 35, No. 2, 107-119.
- Sasaki, Y., Konishi, N., Kasuya, M., Kohri, M. and Taniguchi, T. (2015). Preparation of size-controlled polymer particles by polymerization of O/W emulsion monomer droplets obtained through phase inversion temperature emulsification using amphiphilic comb-like block polymers. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, Vol. 482, 68-78.
- Shinoda, K. and Arai, H. (1964). The Correlation between Phase Inversion Temperature in Emulsion and Cloud Point in Solution of Nonionic Emulsifier. *The Journal of Physical Chemistry*, Vol. 68, No. 12, 3485-3490.
- Solans, C. and Sole, I. (2012). Nano-emulsions: Formation by low-energy methods. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, Vol. 17, 246-254.
- Spernath, L. and Magdassi, S. (2007). A new method for preparation of poly-lauryl acrylate nanoparticles from nanoemulsions obtained by the phase inversion temperature process. *Polymers for Advanced Technologies*, Vol. 18, 705-711.
- 鈴木敏幸 (2012) . 乳化の基礎と今後の潮流. オレオサイエンス, Vol. 12, No. 8, 311-319.
- 田中正夫 (1999) . IJ用超微粒子顔料インク. 日本印刷学会誌, Vol. 36, No. 4, 237-243.
- 脇田和晃 (2012) . 両親媒性ポリエーテルが誘起する両連続マイクロエマルジョンとその応用. 科学と工業, Vol. 86, No. 3, 93-97.
- Zhao, X., Zhou, S., Chen, M. and Wu, L. (2009). Effective encapsulation of Sudan black B with polystyrene using miniemulsion polymerization. *Colloid and Polymer Science*, Vol. 287, 969-977.
- Zhao, X., Meng, Q., Liu, J. and Li, Q. (2014). Hydrophobic dye/polymer composite colorants synthesized by miniemulsion solvent evaporation technique. *Dyes and Pigments*, Vol. 100, 41-49.

(受稿：2018年12月17日 受理：2018年12月25日)