

令和 6 年 4 月 30 日現在

機関番号：17701

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K04752

研究課題名(和文) 高密度ウルトラファインバブル内包コアセルベートによる新規バイオ材料創成

研究課題名(英文) Creation of Novel Biomaterials Using Coacervate Encapsulating Ultrafine Bubbles at High Density

研究代表者

五島 崇 (Goshima, Takashi)

鹿児島大学・理工学域工学系・助教

研究者番号：90709560

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：ファインバブル(FB)技術の高度利用法としてFB由来の固有な界面特性や構造特性を有する生体適合材料のコアセルベート合成に取り組んだ。ゼラチン-アラビアゴム系複合コアセルベートを選定し、装置下部中央に多孔膜を設置した旋回気泡流発生部と出口管を有する旋回流式ミニチャンネル装置を設計した。多孔膜にCO₂を供給してFB周囲の局所pH低下と気泡微細化を促進し、多孔膜下部にHCl水溶液を追添すると平均径29 μmのFBを高密度に内包した高次繊維状コアセルベートが形成され、一方で出口管下端にHCl水溶液を追添すると平均径5.8 μm、CV値26.3%と微細かつ単分散性が高い中空粒子状コアセルベートが形成された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

高密度ウルトラファインバブル(UFB)のコアセルベートをつくることができれば、UFBは高い指向性と吸着性や圧壊による有機物分解能を有することで治療の利便性や患者QOLの向上に寄与するDDS製剤の開発やUFB群が連結して大きな比表面積と凹凸構造を有した空間が形成され細胞の新たな生体機能を発現する細胞ゲルファイバーの開発など波及効果が期待でき、医薬・医療の分野でのインパクトは大きい。

研究成果の概要(英文)：We have undertaken the synthesis of biocompatible materials with unique interfacial and structural characteristics derived from fine bubble (FB) technology as an advanced application of this technology. We selected a gelatin-arabic gum-based composite core-shell bead and designed a swirling flow mini-channel device with a porous membrane installed at the center of the lower part and an outlet tube. Supplying CO₂ to the porous membrane promoted local pH reduction around the FB and bubble refinement. When HCl aqueous solution was added below the porous membrane, high-density fiber-like coacervate containing FBs with an average diameter of 29 μm were formed. On the other hand, adding HCl aqueous solution at the lower end of the outlet tube resulted in the formation of hollow particle-like coacervate with an average diameter of 5.8 μm and a coefficient of variation (CV) of 26.3%, indicating fine and highly monodisperse characteristics.

研究分野：気泡工学

キーワード：サイクロン ファインバブル 複合コアセルベート 核形成時間 ガスカラム 凝集 崩壊

様式 F-19-2

1. 研究開始当初の背景

世界的に関心が高まっているファインバブル(FB)は、気泡表面での電気的相互作用や疎水性相互作用による吸着性や指向性、また気泡収縮・圧壊による活性種の生成による有機物分解能といった性質や特徴を持っている。FBはサイズによりマイクロサイズのマイクロバブル(MB)とナノサイズのウルトラファインバブル(UFB)に分類される。化学産業では、排液からの有価物回収(Etchepare et al., Sep. Purif. Technol., 184(31), 347-353, 2017)から超音波造影剤の開発(Watanabe et al., Heliyon, 5(6), e01907, 2019)に至る幅広い用途においてUFBの利用が始まっている。UFBの効果を最大化するためには、UFBの気泡径分布と個数密度が重要となる。

FBを生成する発生器は日本の民間企業や研究機関を中心に開発が進められてきた。代表的なUFB発生器としてIDEC社製の加圧溶解式発生器ultrafineGALFやYMB社製のキャビテーション式発生装置ファビーが上市されている。申請者も気泡生成技術を専門とするため、これら方式に加えて溶解収縮式発生器(五島ら, 特許第7094026号)など複数のUFB発生装置を発明してきた。UFBのMode径は数10nm~200nm程度、個数密度は 10^8 ~ 10^{10} 個/mL、乳化剤を用いると 10^{11} 億個/mLに達しており、今後の用途展開が期待される。

最近バイオ材料医療・医薬の分野においてFBの利用展開が始まっている。液中にナノサイズの粒子や液滴を分散させて機能を高める製品開発が行われてきた。これらの気泡径分布は数nm~1000nm、個数密度は 10^{11} 個/mLを超えるため、代替としてUFBを用いて粒子や液滴と同等の界面特性を得るためには気泡径分布や個数密度が技術開発のボトルネックになると考える。一方で、既報のFB内包ゲルカプセル調整法は、高粘度溶液中でのFBの生成もしくは低粘度FB水と高粘度ゲル溶液との混合によるのだが、どちらの手法もUFBを高密度に内包することは原理的に難しい。

そこで申請者は、低濃度ゼラチン水溶液を用いて大部分がMBのFB水溶液を調製し、バッチ操作でpH調整によるコアセルベーション法を実施した。高密度でMB群が内包されたゲル粒子の合成に成功し、低粘度FB水をコアセルベーション法により相分離させてUFB個数濃度を飛躍的に高めたコアセルベートをフロー合成できるのではないかと考えた。

2. 研究の目的

UFB水を等電点に相当するpHに調整すると凝集体を形成する実験事実に基づき、ブラウン運動に加えて相分離を促進する巡回流式分離装置を用いたフロー式FB凝集体形成装置を設計して高密度UFBコアセルベートを作成し、新しいバイオ材料としての応用の可能性を検討することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 選定したコアセルベートの核形成速度論解析

乳化能とゲル化能を有する生体適合材料であるゼラチン-アラビアゴム(G-A)系の複合コアセルベートを選定した。内径4mmガラス管に液温度303Kに調整した0.25wt% G-A水溶液を約3.86L/minで供給した。管入口のT字ミキサーへHCl水溶液を供給した。流路長手方向に反射型赤外線センサー(FU-95S, KEYENCE)を設置し電圧値の経時変化をデータロガーで記録した。

(2) フロー式FB凝集体形成装置の提案

UFB凝集体形成方法として、気泡発生装置から一旦MBを発生させたのちに巡回流れにより溶解収縮を起こして気泡の微細化と凝集を促進させた。Fig. 1に、実験装置の概略図を示す。コアセルベート合成部は①巡回気泡流発生部(高さ80mm、流路径20mm)と②出口管(流路径4mm)により構成される。所定濃度のG-A水溶液を温度303Kに調整して耐圧タンクに充填し、所定流量でコアセルベート合成部下端側面へ圧送した。底部中央に設置した多孔体(高さ55mm、外径10mm、孔径10 μ m)にN₂もしくはCO₂を20mL/minで供給して巡回FB流を発生させ、ハンディカメラを用いて流動挙動を撮影した。

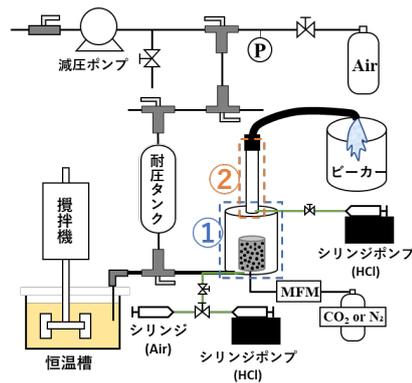


Fig. 1 実験装置概略図

(3) FB内包コアセルベート構造体形成

Fig. 1の条件(A)コアセルベート合成部下端側面または条件(B)出口管入り口側面に、シリンジポンプを用いて所定濃度のHCl水溶液を供給し、条件(A)ではpH=2.5、条件(B)ではpH=3にてコアセルベート合成を行った。合成液を回収し、実体顕微鏡(SE-1300, SELMIC)を用いてコアセルベートを観察した。

4. 研究成果

(1) G-A系複合コアセルベートの核形成速度論解析

Fig.2 に、液滞留時間と電圧値の関係を示す。電圧値はコアセルベート粒子濃度に比例する。6 ms から電圧値が急増し、35 ms をピークとして指数関数的に減少した。Ansys 社製 Fluent を用いた流体解析により HCl 水溶液との混合時間は 2ms 程度であることから、G-A 水溶液の核形成時間が 6 ms と求めた。35ms までは核生成過程が支配的となるが、35ms 以降はコアセルベート粒子の凝集成長過程が支配的となることが分かった。

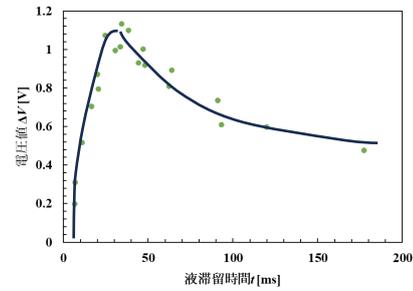


Fig. 2 核形成速度論解析

(2) フロー式 FB 凝集体形成装置内気液二相流動解析
 巡回気泡流発生部における気泡生成能

N₂ を用いて G-A 濃度 1wt% における生成気泡径分布を調べた。液流量によらず気泡径 100 μm 以下の FB が支配的に生成された。CV 値は液流量によらず約 27% となり、高い単分散性を示した。Fig.3 に、G-A 濃度 1wt% における液流量と生成気泡個数平均径の関係を示す。液流量の増加に従って生成気泡の個数平均径が単調に減少し、巡回液流れにより生じるせん断応力により気泡サイズを制御できることがわかった。

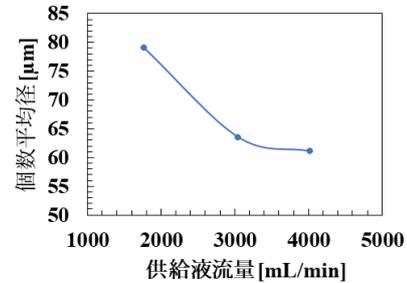


Fig. 3 巡回気泡流発生部の気泡サイズ制御能

巡回気泡流発生部および出口管における FB 凝集崩壊挙動

G-A 濃度 1wt% を用いて巡回気泡流発生部内多孔膜上部空間内の液流量による流動状態を調べた。巡回遠心力により液相に対して密度の低い気相(気泡)が巡回中心部へ集められガスカラムを形成した。Fig. 4 に、G-A 濃度 1wt% における巡回気泡流発生部内多孔膜上部空間内の液流量とガスカラム径の関係を示す。液流量の増加によって N₂ ではガスカラム径は減少し、CO₂ ではガスカラム径が増加した。N₂ は液流量の増加によるボイド率の低下と伸張変形の促進が支配的である一方で、CO₂ の場合には、N₂ に対してヘンリー一定数 H が数十倍 (N₂ では $1.6 \times 10^{-4} \text{ Pa} \cdot \text{m}^3/\text{mol}$ 、CO₂ では $3.4 \times 10^{-6} \text{ Pa} \cdot \text{m}^3/\text{mol}$) 異なることで多孔膜より生成した気泡は急速な溶解収縮を生じて気泡が微細化して慣性力が低下するため、液流量の増加により巡回遠心力が支配的となったと考える。

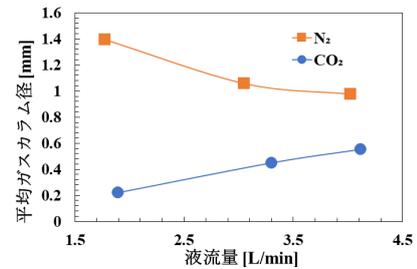


Fig. 4 平均ガスカラム径と液流量との関係(G-A 濃度 1wt%)

Fig. 5 に、CO₂ を用いた出口管入り口における流動挙動を示す。G-A 濃度(0.25, 1wt%)、液流量によらずガスカラムの崩壊が見られた。出口管への急激な流路縮小によりガスカラムの伸長変形と圧力の急低下が要因と言える。

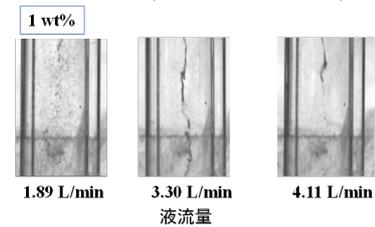


Fig. 5 出口管入り口におけるガスカラムの崩壊挙動

装置内液滞留時間と液巡回強度との関係

Fig. 6 に、液流量 4.11 L/min における液巡回強度 S_w と液滞留時間 t の関係を示す。多孔膜側面空間に相当する液滞留時間が 300 ms 以下、および出口管に相当する 350 ms 以上については高速度ビデオカメラを用いて気泡群の運動をトレースすることで S_w を算出した。多孔膜上部空間に相当する 300 ms 以上 350 ms 以下については、巡回液流場における仮想質量を用いた単一気泡運動モデルを作成して計算した。液巡回強度 S_w は式(1)により定義される。

$$S_w = \frac{r_{sw}\omega}{u_z} \quad (1)$$

ただし r_{sw} [m] は巡回半径、 ω [rad/s] は角速度、 u_z [m/s] は重力方向を負とした流路高さ方向移動速度である。

液滞留時間 300 ms 以下では S_w は液滞留時間とともに増加した。これは、装置底部の液流入部は助走区間に相当し、多孔膜側面の空間にて液滞留時間の増加とともに巡回流が発達したことによる。液滞留時間が 300 ms を超えて多孔膜上部空間に流入すると、液巡回強度が約 2 倍に急増するが、その後は指数関数的に減少した。多孔膜表面による流体摩擦損失の影響がなくなり、そ

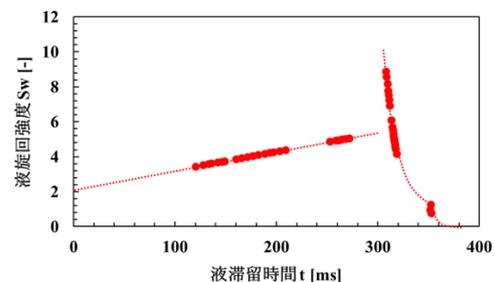


Fig. 6 液巡回強度 S_w と液滞留時間 t の関係 (液流量 4.11L/min)

のエネルギー損失分を流体の旋回エネルギーへ転換されたが、気泡発生部の内壁との摩擦損失に加えて、出口管の急激な流路縮小によりは S_w 急速に低下した。

コアセルベート核形成過程と FB 凝集過程の制御

Fig. 7 に、G-A 系複合コアセルベートの核形成速度論解析および装置内液滞留時間と液旋回強度との関係から得られた結果に基づき、核形成過程と FB 凝集崩壊過程を整理した。図中縦軸の装置高さは液滞留時間に対応している。緑色のプロットと黄色のプロットがそれぞれ(A)気泡旋回流発生部下端側面、(B)出口管下端側面から HCl 水溶液を導入した場合の電圧差 ΔV (コアセルベート粒子濃度に相当)の経時変化となっている。A)から HCl 水溶液を導入した場合は、多孔膜側面空間で核形成が行われたのちに FB が凝集したガスカラムの形成が支配的となることから、高次繊維状のコアセルベートが形成されると考える。一方で、(B)では出口管流入に伴うガスカラムの崩壊が支配的となり、塊状、もしくは分散粒子状のコアセルベートが得られると考えた。

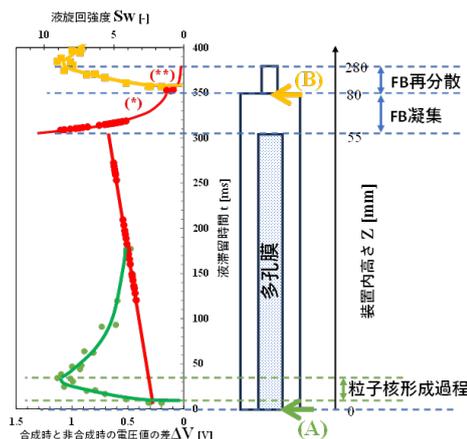


Fig. 7 コアセルベート核形成過程と FB 凝集崩壊過程の整理

(3) FB 内包コアセルベート構造体形成

条件(A)合成部型側面への HCl 導入

幅 $200 \mu\text{m}$ 程度の FB を高密度に内包した塊状コアセルベートが観察された。核形成過程(6~35ms)は旋回気泡流発生部内液滞留時間より小さいため、核形成したコアセルベートが凝集過程を経たのち出口管に流入したことでコアセルベート構造体が形成される。一方でガス種によらず想定した繊維状コアセルベートが観察されなかった。出口管へ流入する際に一旦形成された繊維状コアセルベートが崩壊したと推定した。そこで装置改良をおこない同様にコアセルベート合成を実施した。平均径 $29 \mu\text{m}$ の FB を高密度に内包した幅数百 μm 程度の高次繊維状コアセルベートの形成に成功した(**Fig. 8(a)**)。

条件(B)出口管入り口側面への HCl 導入

平均径 $5.8 \mu\text{m}$ 、CV 値 26.3%と微細かつ単分散性が高い中空粒子状コアセルベートが得られた(**Fig. 8(b)**)。pH=3 の凝集支配環境下にも関わらず 1 週間程度分散安定化し、かつ沈降粒子は容易に再分散した。中空状粒子を種晶としてコアセルベート合成が進行し、FB の表面張力と気体密度に由来した球形度の高い極低密度微粒子が得られたと言える。

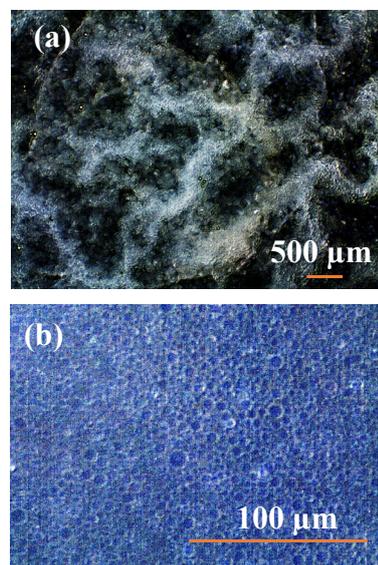


Fig. 8 FB 内包コアセルベート構造体((a)繊維状(b)粒子状)

(4)UFB 内包コアセルベート構造体形成へ向けて

条件(A)、(B)によらず UFB を内包したコアセルベート構造体の形成には至らなかったことから以下の検討を実施した。外部からの液流れを用いずに生成気泡サイズの微細化とサイズ制御を可能とするファインバブル発生装置を提案し(五島, 特願 2022-107754)、本発生器を用いて気泡を発生させ空気飽和水中での CO_2 気泡の気泡収縮挙動を調べて理論値と比較した(五島ら, 化学工学会第 53 回秋季大会, AB201, 2022)。気泡の溶解速度は気泡径の減少とともに短くなった。一方で気泡径によらず収縮初期の急速な溶解収縮の後に溶存する窒素と酸素が気泡内へ拡散することで、収縮速度が大きく減少して MB の主成分が窒素と酸素となった。以上から、旋回気泡流発生部における生成気泡径を減少させ、G-A 溶液の溶存気体濃度を低下させることで、MB の急速な溶解収縮により UFB まで微細化が進行して UFB を内包したコアセルベートの構造体形成が可能となると考える。

<引用文献>

- ① R. Etchepare, et al. : Removal of ferric hydroxide by flotation with micro and nanobubbles, Separation and Purification Technology, 184(31), 347-353, 2017
- ② A. Watanabe, et al. : Echographic and physical characterization of albumin-stabilized nanobubbles, Heliyon, 5(6), e01907, 2019
- ③ 五島崇ら : 気泡形成装置, 日本, 特許第 7094026 号 (2022 年 6 月 23 日)

- ④ 五島崇：気泡形成装置、気泡形成方法、評価装置、及び評価方法，日本，特願 2022-107754
(2022年7月4日)
- ⑤ 五島崇ら：化学工学会第53回秋季大会，ファインバブル発生技術の開発と気体溶解特性の評価，AB201，2022

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

産業財産権の名称 気泡形成装置、気泡形成方法、評価装置、及び評価方法	発明者 五島 崇	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-107754	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

産業財産権の名称 気泡生成用ノズル、気泡生成装置、気泡生成方法、及び気泡生成用ノズル製造方法	発明者 五島 崇	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、特願2022-146253	出願年 2022年	国内・外国の別 国内

〔取得〕 計0件

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	二井 晋 (Nii Susumu) (90262865)	鹿児島大学・理工学域工学系・教授 (17701)	
研究分担者	武井 孝行 (Takei Takayuki) (90468059)	鹿児島大学・理工学域工学系・教授 (17701)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------