

リン脂質を主成分とする巨大分子集合体の構造発色性を利用した新規化粧品素材の開発

東京都市大学工学部エネルギー化学科

黒岩 崇

A novel structural color material was developed using millimeter-sized giant molecular aggregates formed in phosphatidylcholine (PC) /cholesterol (Chol) /stearic acid (SAC) /water systems. A lipid mixture consisting of PC, Chol and SAc (5: 5: 1 in molar ratio) was dissolved in *n*-hexane and placed onto aqueous phases with various pH, then *n*-hexane was removed by evaporation under ambient conditions in order to form giant molecular aggregates in the aqueous phase. At low pH (< 8), film-like aggregates were obtained, while spherical aggregates were formed at high pH (> 8). Small/Wide angle X-ray scattering measurements revealed that the molecular aggregates exhibited the liquid crystalline polymorphism. Spherical aggregates formed at high pH exhibited structural color depending on the salt concentration of their external aqueous phase. The measurement results of reflection spectra of visible lights from the giant molecular aggregates indicated that their tunable colorization was attributed to change in the internal structure of the giant molecular aggregates. Above findings would contribute to develop biocompatible colorization materials for potential cosmetic application without any dyes or pigments.

1. 緒言

自然界においては、昆虫の翅・表皮や鳥の羽を代表例として、特定の波長の光を吸収する色素によらない鮮やかな色彩がみられる。これらは「構造色」と呼ばれる。構造色は、発色素材の表面にある数百 nm 程度の微細構造に照射された光が回折、散乱、干渉などを起こし、特定の波長域の可視光線が強められることで観察される¹⁻⁴⁾。構造色は一般に美しい光沢を持ち、色素に比べて退色しにくい性質があるため、構造色を示す微細構造を人工的に作り上げることで新しい表示材料や色彩材料として利用する試みが展開され⁵⁾、その中でも、近年、分子集合体やゲルなどのソフトマテリアルをベースとする構造発色性材料が注目を集めている^{6,7)}。これらの研究では、シリカ微粒子、界面活性剤、高分子ゲルなど、主として人工的に合成された化合物が基材として利用されている。一方で、自然界に広く分布する生物体の構造色の構造的起源の解明が進む中^{5,8,9)}、天然物由来の分子材料を利用して人為的環境下で構造発色性を発現させる試みはあまり進んでいない。一部のセルロース誘導体の水溶液が可視光の選択反射に基づく構造発色を示すことが古くから知られているが¹⁰⁾、化学修飾を伴わない、天然物由来の生体分子そのものを利用して構造発色材料に利用することができれば、より高い生体適合性が求められる化粧品や食品などの新規分野への展開が期待できる。



Development of a novel cosmetic material based on structural colorization of giant molecular aggregates mainly consisting of phospholipids

Takashi Kuroiwa

Department of Chemistry and Energy Engineering, Faculty of Engineering, Tokyo City University

筆者らの研究グループでは、リン脂質、コレステロールに少量の添加剤を加えた混合脂質系において、従来着目されてこなかったミリメートル以上の大きさをもつ巨大分子集合体の作製方法を開発し、さらにこの巨大分子集合体が温度や外水相の組成といった環境要因によりその形態や外観・色彩を大きく変化させることを見出してきた¹¹⁾。これまでに、リン脂質/コレステロール/長鎖アルキルアミン/水系において、塩濃度依存的に構造発色性を示す分子集合体の作製に成功している¹²⁾。本研究では、この巨大分子集合体の生体適合性向上と化粧品分野への展開を目指して、長鎖アルキルアミンに代わる添加成分として化粧品分野でも利用される長鎖脂肪酸に注目した。本稿では、リン脂質/コレステロール/長鎖脂肪酸/水系において色彩を自在に制御可能な構造発色素材を開発することを目的として、巨大分子集合体の形状および構造に及ぼす温度および pH の影響、発色性に及ぼす塩濃度の影響を中心に、巨大分子集合体の特性評価を行った結果について報告する。

2. 方法

2. 1. リン脂質巨大分子集合体の作製

卵黄由来ホスファチジルコリン (PC) にはコートソーム NC-50 (日油株式会社) を使用した。コレステロール (Chol) および *n*-ヘキサンは和光純薬工業株式会社 (現・富士フイルム和光純薬株式会社) より購入し、ステアリン酸 (SAC) は東京化成株式会社より購入した。その他の試薬は和光純薬工業株式会社より特級または分析グレードのものを購入して使用した。いずれも購入後の精製は行わず、そのまま実験に用いた。

PC:Chol:SAC = 5:5:1 のモル比でヘキサンの溶解 (PC 濃度 13mM) し、これを脂質溶液とした。この脂質溶液を種々の pH の緩衝液 (50mM) 上に積層し、25℃ 以上で 24

時間静置してヘキサンを蒸発除去することで、球状または膜状の巨大分子集合体を作製した。このとき、脂質溶液と緩衝液の体積比は1:2とした。得られた巨大分子集合体を外水相とともに超純水中に移し、水相の電導度を測定しながら外水相を超純水で希釈することで外水相の塩濃度を所定の値に調整した。

2. 2. 小角/広角X線散乱(SAXS/WAXS)測定による巨大分子集合体の構造評価

作製した巨大分子集合体に対し、高エネルギー加速器研究機構PF BL-6AステーションにてSAXSおよびWAXS測定を行った。X線の波長は1.5Åとした。試料温度を40℃から5℃まで制御(冷却速度2.5℃/min)しながら、SAXSでは1分おき、WAXSでは2分おきに散乱パターンを撮影し、得られた2次元散乱データを使用して相構造を解析した。

2. 3. 巨大分子集合体の発色性の評価

巨大分子集合体の発色の様子は、主としてマクロズームレンズ(TS93005、株式会社杉藤)およびカラーCCDカメラ(STC-TC202USB、センテック株式会社(現・オムロンセンテック株式会社))より構成されるデジタルマイクロスコープシステムにより観察した。巨大分子集合体の可視反射スペクトルは図1に示す装置により測定した。円筒形のガラス製サンプル容器に外水相とともに巨大分子集合体を封入し、光ファイバーを介してハロゲンランプ光源(Megalight 100、株式会社モリテックス)からの光を試料に入射した。測定角 θ の位置に設置した光ファイバープローブを接続したマルチチャンネル分光器(USB-650 Red Tide、Ocean Optics, Inc.)を用い、種々の測定角における反射スペクトルを測定した。

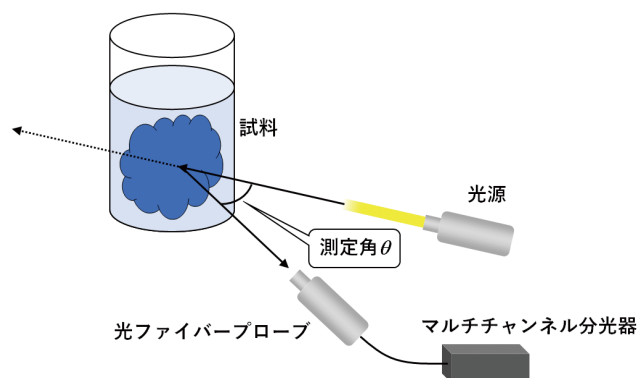


図1 反射スペクトル測定装置の概略

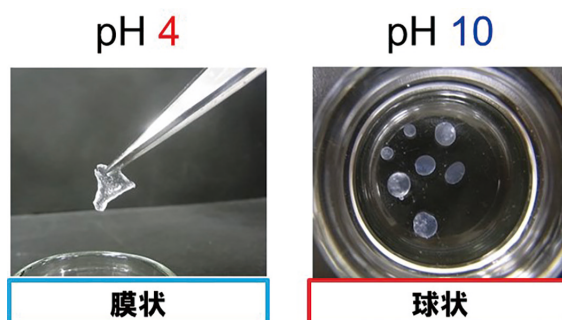


図2 異なるpHで得られた巨大分子集合体の形状の違い

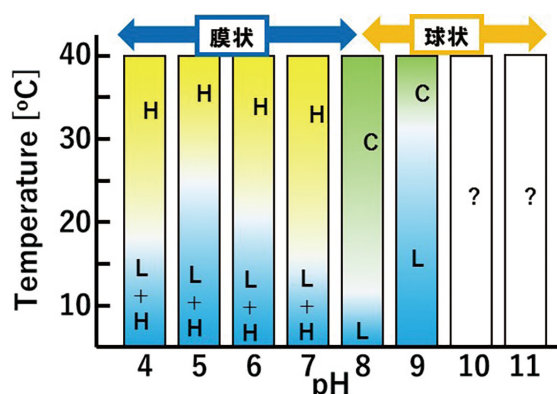


図3 種々のpHおよび温度における巨大分子集合体の相構造(H:ヘキサゴナル相、C:キュービック相、L:ラメラ相、?:相構造の特定には至っていないが、秩序性の低いキュービック相と考えられるスポンジ相の発現が示唆される)

3. 結果

3. 1. PC/Chol/SAc/水系における巨大分子集合体の作製と構造評価

PC/Chol/SAc/水系において、水相のpHを種々変えて巨大分子集合体を作製した結果、pHが8より低い条件では膜厚1mm程度の透明・膜状分子集合体が、pHが8よりも高い条件では直径0.5mm~2mm程度の透明・球状分子集合体を得られた(図2)。なお、SAcを添加していないPC/Chol/水系(PC:Chol=5:5)では、水相のpH(4~11)によらず膜状の分子集合体を得られ、球状分子集合体の形成は認められなかった。SAXS測定による巨大分子集合体の構造評価¹³⁾を行った結果を図3に示す。低pH条件で得られる膜状分子集合体においては、30℃~40℃付近でヘキサゴナル相が発現し、低温域でラメラ相が発現していることがわかった。一方、高pH条件で得られる球状分

子集合体においては、30℃~40℃付近でキュービック相が発現し、低温域でラメラ相が発現していることがわかった。WAXS測定の結果、いずれの条件においても分子集合体を構成する脂質のアルキル鎖が低い秩序性を持って充填した液晶状態であることが示され、PC/Chol/SAc/水系で得られる巨大分子集合体は温度およびpHに依存して液晶多形を示すことが明らかとなった。

3. 2. 巨大分子集合体の構造色の発現と塩濃度依存性

塩濃度50mM、pH10のホウ酸緩衝液中で得られた透明・球状の巨大分子集合体の外水相を超純水で希釈していくと、

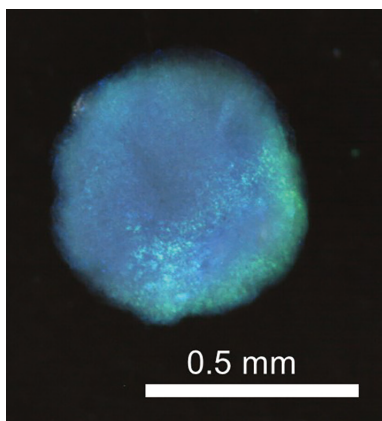


図4 外水相の塩濃度を0.51 mMに調整した巨大分子集合体の発色の様子

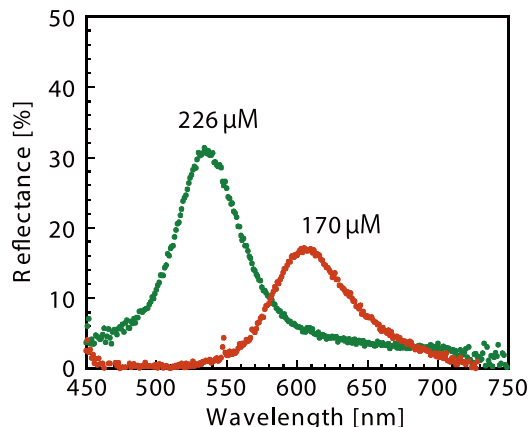


図5 異なる外水相塩濃度に調整した巨大分子集合体の正面反射スペクトル($\theta = 0^\circ$)

巨大分子集合体は膨潤し発色性を示した。図4に示すように、外水相の塩濃度を0.51 mMに調整した場合、分子集合体が青色に発色している様子がわかる。図5には、異なる塩濃度における巨大分子集合体の正面反射スペクトル($\theta = 0^\circ$)を示す。いずれの塩濃度においても特定の波長域に明確な反射ピークが認められ、塩濃度によって反射波長が異なることが明らかとなった。本巨大分子集合体の構成成分(PC、CholおよびSAc)はいずれも可視光の吸収を示さず無色の化合物であることから、この発色は巨大分子集合体内の特定の構造に起因する構造色であると考えられる。

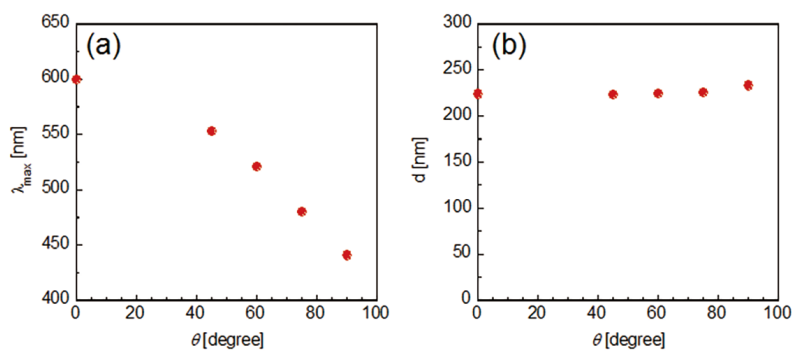


図6

- (a) 外水相塩濃度192 μMにおける最大反射波長の測定角依存性
- (b) 種々の測定角において求められた周期長dの値

3.3. 反射スペクトルの角度依存性

塩濃度を192 μMに調整した巨大分子集合体の反射スペクトルを様々な測定角 θ において測定し、得られたスペクトルから求めた最大反射波長(λ_{\max})を図6(a)に示す。 θ が大きくなるにつれて最大反射波長は短波長側にシフトした。この結果から、散乱ベクトルの大きさ $q_0 = (4\pi/\lambda_{\max})n_e \cos(\theta/2) [\text{nm}^{-1}]$ を求め、 $d = 2\pi/q_0$ の関係より周期長 $d [\text{nm}]$ を算出した⁴⁾。ここで、 n_e は試料の有効屈折率である。図6(b)には、各測定角において求められた d 値を示す。各 θ における d 値はほぼ一定であり、これらを平均した平均周期長 d_{av} は226 nmであった。周期長 d が測定角によらず一定であること、および d の値が可視光線の波長の半分程度であることは、構造色の特徴の一つである^{4,14)}。種々の塩濃度において同様の測定を行い、対応する d_{av} の値を求めた結果を図7にまとめた。図7より、塩濃度が低くなるにつれて d_{av} の値が大きくなることが示され、塩濃度を低下させることにより周期長 d が大きくなる傾向が認められた。この結果は、塩濃度により巨大分子集合体内部の周期構造の大きさが変化することで異なる色彩を呈することを示唆

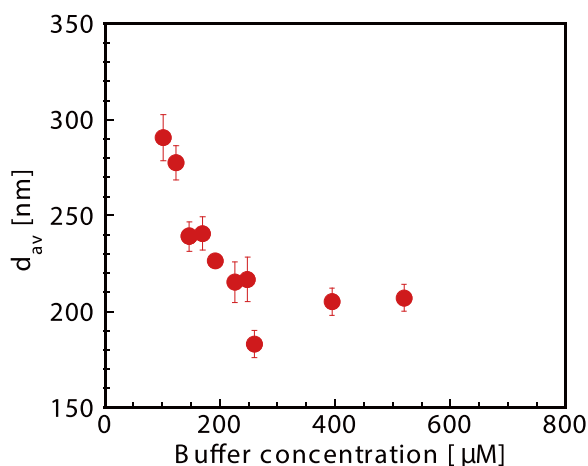


図7 平均周期長 d_{av} に対する外水相塩濃度の影響

するものであり、外部環境により巨大分子集合体の構造発色特性を制御できる可能性を示すものである。今後、さらに巨大分子集合体の発色および構造に関するデータを蓄積するとともに、内部構造の詳細な分析を行うことで、発色メカニズムの詳細な解明と発色特性のより精緻な制御が可能になると期待される。

謝 辞

本研究を助成対象課題として採択いただきました公益財団法人コスメトロジー研究振興財団に心より御礼申し上げます。小角および広角X線散乱測定では、筑波大学生命環境系教授 市川創作先生ならびに広島大学大学院生物圏科学研究科生物機能開発学専攻教授 上野聡先生のご支援とご助言を賜りました。ここに記して深謝いたします。研究を進めるにあたり、東京都市大学工学部エネルギー化学科高分子・バイオ化学研究室(機能性バイオ分子グループ)の家才子翔平氏、大藤真琴氏には多大なご協力をいただきました。ありがとうございました。

(引用文献)

- 1) S. Kinoshita, S. Yoshioka, Y. Fujii, N. Okamoto: Photophysics of structural color in the Morpho butterflies. *Forma*, **17**, 103-121 (2002).
- 2) V. Sharma, M. Crne, J. O. Park, M. Srinivasarao: Structural origin of circularly polarized iridescence in jeweled beetles. *Science*, **325**, 449-451 (2009).
- 3) E. R. Dufresne, H. Noh, V. Saranathan, S. G. J. Mochrie, H. Cao, R. O. Prum: Self-assembly of amorphous biophotonic nanostructures by phase separation. *Soft Matter*, **5**, 1792-1795 (2009).
- 4) H. Noh, S. F. Liew, V. Saranathan, S. G. J. Mochrie, R. O. Prum, E. R. Dufresne, H. Cao: *Adv. Mater.*, **22**, 2871-2880 (2010).
- 5) J. Xu, Z. Guo: *J. Colloid Interf. Sci.*, **406**, 1-17 (2013).
- 6) X. Chen, H. Mayama, G. Matsuo, T. Torimoto, B. Ohtani, K. Tsujii: *J. Colloid Interf. Sci.*, **305**, 308-314 (2007).
- 7) N. Kumano, T. Seki, M. Ishii, H. Nakamura, Y. Takeoka: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **50**, 4012-4015 (2011).
- 8) V. Saranathan, C. O. Osuji, S. G. Mochrie, H. Noh, S. Narayanan, A. Sandy, E. R. Dufresne, R. O. Prum: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **107**, 11676-11681 (2010).
- 9) V. Saranathan, J. D. Forster, H. Noh, S. F. Liew, S. G. Mochrie, H. Cao, E. R. Dufresne, R. O. Prum: *J. R. Soc. Interface*, **9**, 2563-2580 (2012).
- 10) R. S. Werbowyj, D. G. Gray: *Macromolecules*, **17**, 1512-1520 (1984).
- 11) T. Kuroiwa, T. Saito, A. Kanazawa: Abstract of Asian International Symposium -Materials Chemistry-, The 92nd Annual Meeting of Chemical Society of Japan, No. 2F4-36 (2012).
- 12) 黒岩崇, 勝又ひかり, 市川創作, 金澤昭彦: 日本膜学会第35年会講演要旨集, p. 117 (2013).
- 13) 高分子学会編: 『新高分子実験学第6巻 高分子の構造(2)散乱実験と形態観察』, 共立出版, pp. 229-233 (1997).
- 14) 木下修一: 『生物ナノフォトンクスー構造色入門』, 朝倉書店(2010).