

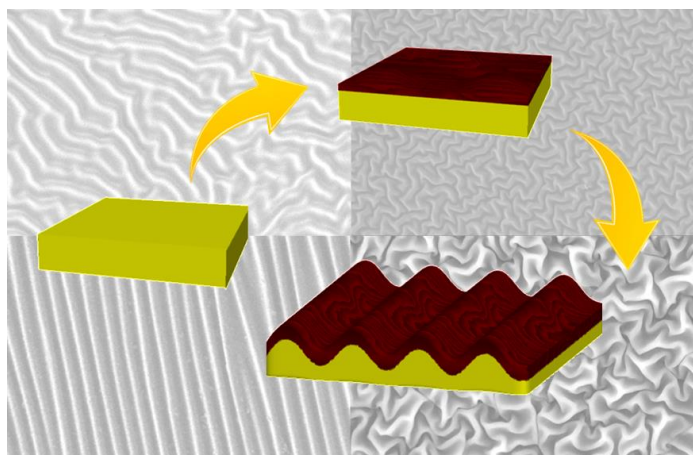
Accounts of Materials & Surface Research

Development of Science for Dying-induced Surface Wrinkles

Hironori Izawa*

Faculty of Engineering, University of Miyazaki
1-1 Gakuen Kibanadai-Nishi, Miyazaki 889-2192, Japan
h-izawa@cc.miyazaki-u.ac.jp

Surface wrinkling is one of the attractive phenomena to produce microstructured surfaces. Although basic approaches to fabricate microscopic surfaces wrinkles induced by mechanical strain had been established and they are widely used for various fields, those for surface wrinkles induced by drying has not sufficiently developed. We found surface wrinkling of chitosan films via horseradish peroxidase catalyzed reactions of phenolic acids and revealed a mechanism for the surface wrinkling system. The mechanism inspired us to develop novel surface wrinkles induced by polyion complex skin layers and drying. Consequently, we obtained important knowledge to produce drying-induced surface wrinkles. The keys are “existence of a skin layer having moderately harder mechanical property and a lower drying shrinkage volume than a substrate” and “plane drying shrinkage of a substrate to generate strain”. In addition, morphology can be controlled by the regulation of drying stress. We expect that this knowledge accelerate the development of drying-induced surface wrinkles and help elucidate the formation of microstructures generated in nature.



Keyword: Wrinkle, Skin layer, Polyion complex, Drying, Chitosan

Hironori Izawa is a full professor in University of Miyazaki. He received his M.S. in 2004 from Tohoku University under Prof. Shin-ichiro Shoda. He received his PhD in 2010 from Kagoshima University under Prof. Jun-ichi Kadokawa. He spent postdoctoral research periods at the National Institute for Materials Science (NIMS) under the supervision of Prof. Katsuhiko Ariga. He moved to Tottori University in 2012 as an assistant professor, and promoted to an associate professor in 2020. He was moved to University of Miyazaki at 2022 to be a full professor. His major interests are the preparation of functional polysaccharide materials including gel and film materials. He received the Award for Encouragement of Research in Polymer Science (The Society of Polymer Science, 2015), the encouragement award (the Japanese Society for Chitin and Chitosan, 2018), and PJ ZEON Award (The Society of Polymer Science, 2019).



乾燥じわの科学の開拓

井澤浩則

宮崎大学工学部

1. しわの科学

リンクルは、動・植物や材料の表面に現れる凹凸の散逸構造である¹⁾。“リンクル”と聞くと耳慣れないが、“しわ”と呼ぶと耳馴染みがあり、誰もが想像できる。しわと聞いて大半の人が思い浮かべるのが、使用済みの衣類や加齢によって生じるしわであろう。両者とも“しわ”と表現されるが、衣類のしわは、生地が折れ曲がってできる凹凸であり、加齢によるしわは、表面のみに表れる凹凸である。本稿で扱うしわは、後者の表面のみに表れる凹凸を指すものであり、それをリンクルや表面リンクルと呼ぶこととする。

自然界の動・植物表面には、マイクロなものからマクロなものまで多種多様なサイズや形態のリンクルが存在する。一見、それらの生成原理は異なるように思えるが、原理の本質は共通している。**Figure 1** は、リンクルの生成を簡略化した図である。硬い表層と柔らかい土台（基盤）からなる物質に、水平方向の圧縮応力による歪みがかかると、硬さの違いから二層間で歪みのずれが生じる。そのずれを解消するために表面が座屈することでリンクルが生成する²⁾。つまり、リンクル生成の鍵となるのは、基盤よりも硬い“スキン層”と基盤の“歪み”である。

例えば、このメカニズムに倣いエラストマーであるポリジメチルシロキサン（PDMS）表面にUV/O₃照射によってガラス様の硬いスキン層を形成する³⁾。そこに、圧縮応力を加えると、ガラス様のスキン層とエラストマーである基盤の弾性率の違いによって微細なリンクルが生成する。

Figure 1 のような水平方向の圧縮によって生成するリンクルのサイズと基盤及びスキン層の特性には下式(1)が提案されている⁴⁾、

$$\lambda = 2\pi d \left(\frac{E_s}{3E_f} \right)^{\frac{1}{3}} \dots (1)$$

λ と d は、それぞれ、波長とスキン層の厚さであ

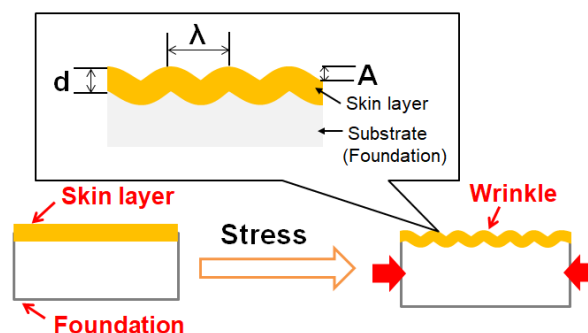


Figure 1. Simplified image of surface wrinkling by means of mechanical strain.

り、 \bar{E} は、 $E/(1-\nu^2)$ で表される plane strain modulus である（この式の E と ν は、それぞれ、弾性率とポアソン比である）。下付きの s と f は、スキン層と土台を意味する。一方で、振幅 (A) は下式(2)で表される、

$$A = d \left(\frac{\varepsilon}{\varepsilon_c} - 1 \right)^{\frac{1}{2}} \dots (2)$$

ε と ε_c は、それぞれ、歪みと臨界歪みであり、 ε_c は、下式(3)で表される、

$$\varepsilon_c = \frac{1}{4} \left(\frac{\bar{E}_f}{\bar{E}_s} \right)^{\frac{2}{3}} \dots (3)$$

これらの式からリンクルのサイズを表す波長と振幅は、スキン層と基盤の弾性率及び歪みで決まることが分かる。例えば、同じ基盤を用いた場合、スキン層の弾性率が高くなれば、リンクルのサイズは大きくなる。このような応力によって誘起されるリンクルの設計指針を利用してリンクルの構造や形態を制御する方法¹⁻⁴⁾やそれらを用いる接着制御⁵⁾、超撥水表面⁶⁾、防汚表面⁷⁾、抗菌表面⁸⁾、表面増強ラマン散乱デバイス⁹⁾、電子・光学デバイス¹⁰⁾、細胞培養基材¹¹⁾などが非常に多く報告されている。また、歪みの誘起には基盤の熱膨張を利用することもできる¹²⁾。さらに、最近、熱収縮ポリスチレンシート（通称、プラバ

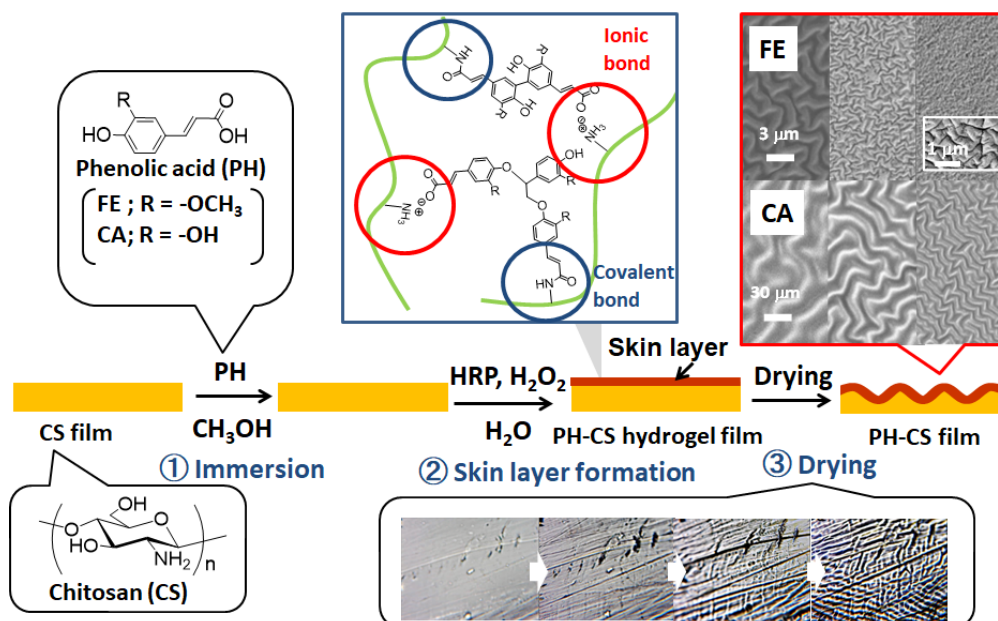


Figure 2. Graphical image of the preparation of surface wrinkles via HRP-catalyzed reactions and drying. Reproduced from Ref. 14 and 15.

ン)を基盤に用いるリンクルも多く報告されている。この方法では、プラバン上にスキン層を調製し、ガラス転移点以上に加熱するとプラバンの熱収縮によってリンクルが生成する¹³⁾。

ここまでは応力や熱による歪みで誘起されるリンクルについて解説したが、自然界には干しブドウのような乾燥によって誘起されるリンクルも存在する。干しブドウができるまでを考えてみよう。ブドウ内部は、果汁を含んだ果肉があり、その表面は果肉よりも硬い果皮で覆われている。所定の条件で乾燥することで、果肉が水分蒸発に伴って大きく収縮する。この際、果皮と果肉の間に歪みのズレが生じ、そのズレを解消するためにリンクルが生成する。つまり、干しブドウでは、果皮と果肉の“乾燥による収縮率の違い”により、リンクルが誘起される。このように、乾燥によって発生するリンクル(乾燥リンクル)は、身近に存在するが、積極的な材料開発への利用は行われていない。これは乾燥リンクルの報告例が極めて少なく、一般的な開発指針が存在しないことが原因の一つと考えられる。事実、合理的にスキン層を設計してリンクルを創製した例は、筆者らが報告するまでは存在しなかった。本稿では、筆者らが報告してきた乾燥によって誘起されるリンクル形成現象を紹介する。

2. キトサンフィルムのリンクル形成現象

筆者らは、アミノ多糖であるキトサン(CS)のキャストフィルム表面でフェノール酸(PH)の酵素触媒重合を行うとマイクロな表面リンクルが生成する現象を偶然発見した^{14,15)}(Figure 2)。この現象は、CSフィルムをフェルラ酸(FE)やカフェ酸(CA)のようなPHのメタノール溶液に浸漬し(①浸漬)、次いで西洋ワサビ由来ペルオキシダーゼ(HRP)を用いてフィルム表面でPHの酵素触媒重合を行い(②スキン層形成)、乾燥(③乾燥)すると起こる。FEで観察されたリンクルは、波長約2 μmで①浸漬の温度が上がるにつれてサイズが低下した(Figure 1中のSEM画像の上段)。CAではそれよりも大きな波長約20 μmのリンクルが観察され、FEと同様に①浸漬の温度が上がるにつれてサイズが低下した(Figure 1中のSEM画像の下段)。スキン層の構造やリンクル生成の駆動力は不明であったが、前項で述べた応力によるリンクルの生成機構から、このリンクルにも基盤より硬いスキン層が存在し、CSフィルムに歪みを誘起する何らかのトリガーが存在すると考えられた。この現象の発見から間もなく、このリンクルは、乾燥が駆動力の乾燥リンクルであり、HRPの酵素触媒重合によりCSフィルム表

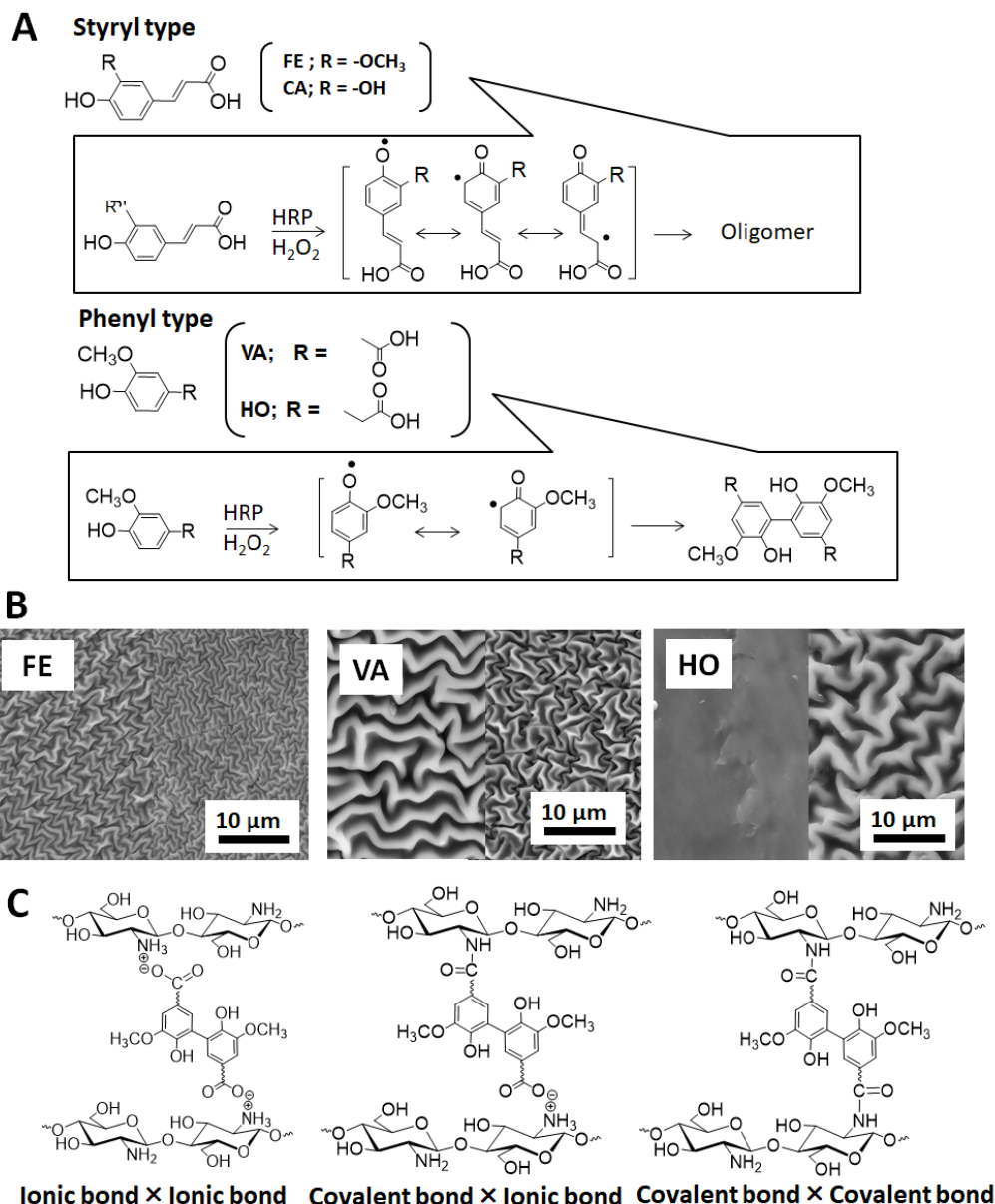


Figure 3. Preparation of the surface wrinkles with different types of PHs. HRP-catalyzed reaction of PHs in water (A). SEM images of the obtained films with FE, VA, and HO via 30°C or 40°C immersion (left or right, respectively) (B). Possible crosslinking structures in the skin layers (C). Reproduced from Ref. 17.

面が架橋されることでスキン層が生成することが分かった。さらに、リンクルのサイズは、応力で発生するリンクルと同様にスキン層の弾性率に依存することが明らかになった¹⁶⁾。つまり、①浸漬の温度が上がるにつれてリンクル波長が低下するのは、PH由来の酸によりフィルム表面のCSの低分子化が起こるからであり、その結果として生成するスキン層の弾性率が低下したことが分

かった。一方、スキン層の分析の難しさから、その架橋構造を解明するのは容易では無かった。

スキン層の詳細な構造を考察するために、重合様式の異なるPHを用いてリンクル形成を実施した¹⁷⁾。スチリル型のFEやCAは、水中での酵素反応によってオリゴマーに変換されるが、バニリン酸(VA)やホモバニリン酸(HO)のようなフェニル型のPHでは、構造上の制約により二

量体のみが生成することが知られている¹⁸⁾ (Figure 3A)。VAとHOを用いてリンクルの調製を検討したところ、二量体しか生成しないにもかかわらず、リンクルの生成が確認された (Figure 3B)。また、HOでは、浸漬温度が30°Cだとリンクルが生成しなかった。

①浸漬後のフィルムからソックスレー抽出によってPHを取り除き、乾燥を行った後に¹H NMR、IR、及び元素分析を行った。リンクルが生成した条件では、ソックスレー抽出した後においても、完全にはPHが除去できないことが確認されたことから、CSフィルムをPHのメタノール溶液に浸漬する工程(①浸漬)で、PHとCSとの間に共有結合が生成したことが明らかになった。また、化学合成によりアミド結合を介してFEをグラフト化したFEグラフト化CSとソックスレー抽出後のフィルムの¹H NMRスペクトルを比較した結果、両者のFE由来のシグナルのケミカルシフトが一致したことから、共有結合はアミド結合であることが明らかになった。通常、このような温和な条件でのアミド形成は考えにくい、溶媒であるメタノールとPHとの平衡反応で生じたと考えられる微量のFEのメチルエステルが確認されたことから、エステル交換反応によってアミド結合が生成したと考えられた。一方、リンクルが生成しなかったHOの溶液に30°Cで浸漬したフィルムには、HOがほとんど固定化されていないことがIRや元素分析により分かった。これは、HOのカルボキシ基は隣接する炭素が sp^3 炭素なので、FEやVAのカルボキシ基よりも反応性が低いことが理由と考えられた。これらのことから、①浸漬におけるPHの固定化がスキン層の形成に重要であることが示唆された。

VAとHOの場合、②スキン層形成で生成する架橋構造は、イオン架橋×イオン架橋、共有結合×イオン結合、共有結合×共有結合の3種類に限定される (Figure 3C)。モノマーであるPHが無い状態で酵素反応を行ってもリンクル形成は起きなかったことから、架橋構造は共有結合×共有結合では無いと考えられた。また、上述の通り固定化されたPHが存在しない場合は、リンクル形成が起らないことから、スキン層の架橋構造は、イオン結合×イオン結合では無い

と考えられた。これらのことから、このPHの酵素触媒重合で生成するスキン層の架橋構造は、共有結合×イオン結合であると示唆された。また、スキン層のIR分析から、イオン結合の存在が確認されたことから、スキン層の架橋構造は、オリゴPH残基とCS主鎖とのイオン架橋であると結論付けた。また、スキン層の厚みはSEMとTOF-SIMS分析から、200 nm程度と見積もられた。

3. PICスキン層により誘起される表面リンクル

上記の手法において、スキン層形成におけるイオン架橋の重要性が強く示唆された。この事実から、アニオン性高分子を用いてCSフィルムの表面付近のみにイオン架橋を形成すれば、乾燥による表面リンクルがより簡便に得られると考えられた。そこで、アニオン性高分子を用いるCSフィルム表面へのポリイオンコンプレックス(PIC)スキン層の調製を鍵とするリンクルの創製について研究を行った^{19,20)}。

アニオン性多糖であるアルギン酸ナトリウム(AG)水溶液へのCSフィルムの浸漬によるPICスキン層の調製を検討した¹⁹⁾。CSのキャストフィルムは、酢酸水溶液にて調製したCS水溶液を60°Cで静置することで得られる。しかし、このキャストフィルムには酢酸が含まれるので、AG水溶液中で速やかに溶解してしまう。そこで、ここではキャストフィルムをメタノールに2日間浸漬することで酢酸を除去し、乾燥したCSフィルムを用いた(酢酸を除去することで、CSフィルムが水不溶性になるので、PICスキン層の調製が可能になる)。水で膨潤させたCSフィルムを1.0 wt% AG水溶液に30°Cで24時間浸漬し、その後、余分に付着したAGを取り除くために純水に30°Cで6時間浸漬し、得られたフィルムを40°Cで乾燥した (Figure 4A)。Figure 4Bは、異なる分子量のAG(80-120 cps及び300-400 cps, 10 g/L, 25°C)を用いて得られたフィルムのSEM画像である。80-120 cpsのAGでは波長約1 μmのリンクルが見られた。それに対して、300-400 cpsでは、同程度の大きさの半球状のバンプ構造が見られた。このように、PICスキン層を用いることで、リンクルと半球状のバンプ構造が

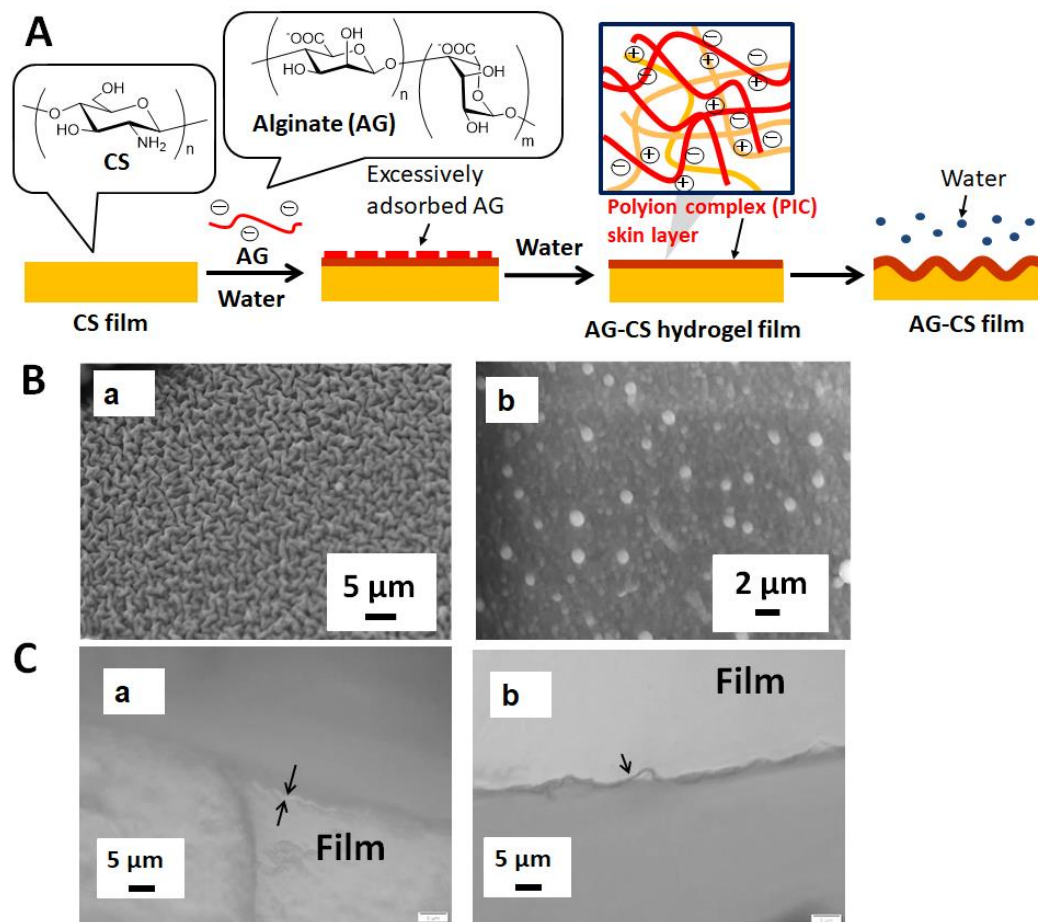


Figure 4. Surface wrinkling system-based on preparation of PIC skin layers with AGs and drying. Graphical image of this system (A). SEM images of AG-CS films (B-a: 80-120 cps, B-b: 300-400 cps). Optical microscopic images of the cross sections of AG-CS films (C-a: 80-120 cps, C-b: 300-400 cps). Reproduced from Ref. 19.

作り分けできることが明らかになった。後述するが、バンプスが生成するメカニズムを、当初はリンクルと類似したメカニズムと考えていたが、それとは異なることが分かってきた。

Figure 4C は、フィルム断面の光学顕微鏡画像である。興味深いことに、リンクルが生成した低粘度な AG では、スキン層と考えられる約 1 μm の表層が観察された。一方、バンプス構造が生成した高粘度な AG では、明確な表層が確認されなかった。

PIC スキン層の硬さに関する知見を収集するために、AG と CS がイオン架橋した PIC フィルムの弾性率を測定した。PIC スキン層は、CS フィルムに AG が取り込まれることで生成するので、AG が過剰になるとは考えにくい。そこで、AG と

CS を 1:1, 1:2, 及び 1:3 (重量比) で混合し、キャスト法にて PIC フィルムを調製した。引張試験の応力-歪曲線から算出した弾性率は、いずれの組成比においても 2 GPa 程度であった。CS フィルムの弾性率は約 1 GPa であったことから、PIC スキン層と CS フィルムの弾性率の差はたった 2 倍程度と見積もられた。上述の通り、PDMS への応力印加で生成するリンクルの基盤とスキン層の弾性率の差は 100~1000 倍であることが知られているが、乾燥によって誘起されるリンクルには、大きな弾性率の差は必要ないことが明らかになった。

様々な分子構造のアニオン性高分子を用いてリンクルの創製を検討した²⁰⁾。アニオン性高分子には、ポアクリル酸ナトリウム (PA; 分子量: 6

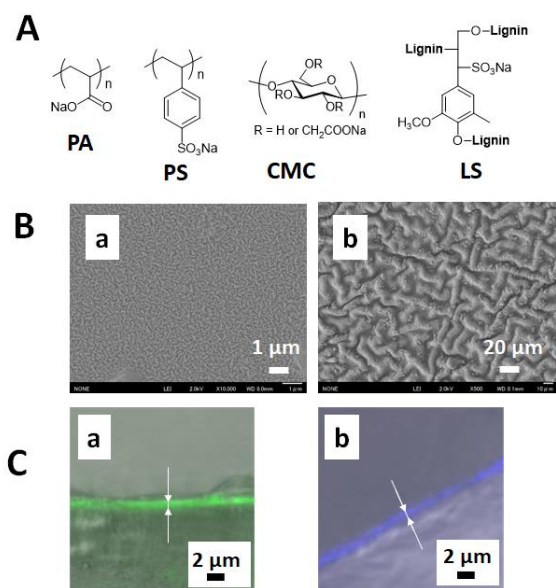


Figure 5. Chemical structures of PA, PS, CMC, and LS (A). SEM images of PA-CS film (B-a) and LS-CS film (B-b). CLSM images of the cross sections of PA-CS film (C-a) and LS-CS film (C-b). Reproduced from Ref. 20.

万)、ポリスチレンスルホン酸ナトリウム(PS;分子量:7万)、カルボキシメチルセルロース(CMC;分子量7万)、リグニンスルホン酸(LS;分子量6万)を用いた(Figure 5A)。尚、上記の80–120 cpsのAGの分子量は、これらのアニオン性高分子と同程度(6万)である。

同程度の分子量のPA、PS、CMC、LSを用いてリンクル形成を検討した結果、全てにおいて微細なリンクル表面が確認された。柔軟な主鎖構造を有するPA及びPSを用いて得られたリンクルの平均波長は、AGよりも小さく、ともに0.15 μm であった(Figure 5B-a)。多糖であるCMCを用いると、PAやPSより大きな波長のリンクルが生成し、平均波長は0.56 μm であった。LSを用いた場合、より大きなリンクルが得られ平均波長は15.4 μm であった(Figure 5B-b)。

蛍光ラベル化したPA及びLSを用いてリンクルフィルムを調製し、共焦点レーザー顕微鏡(CLSM)によりスキン層の厚みを比較した(Figure 5C)。PAとLSともに、約1 μm 程度の蛍光層が観察されたことから、両者ともに約1 μm

程度のスキン層が生成することが分かった。これは、AGで観察された表層と同程度であった。これらのことから、同程度の分子量のPA、LS、AGから生成するPICスキン層の厚みは同程度であり、これらのサイズが大きく異なる理由は、スキン層の弾性率の違いと考えられた。

PICスキン層の硬さがリンクルサイズに関与していることが示唆されたことから、微小硬度計を用いてPICスキン層の表面硬さを評価した。ここでは、吸引濾水下での乾燥で得られる平滑な表面のフィルムを測定に用いた(吸引濾水による張り付きでリンクルの発生を抑制することができる)。同様な分子量のPA、PS、LS、CMC、AGを用いて得られたPIC層を有するフィルム及びCSフィルムの負荷-除負荷曲線から、Martens硬さを算出した。その結果、PA、PS、LS、CMC、AG及びCSフィルムのMartens硬さは、それぞれ、 80.8 ± 2.0 MPa、 82.3 ± 3.3 MPa、 224.9 ± 13.1 MPa、 107.9 ± 4.3 MPa、 150.8 ± 7.8 MPa、及び 78.3 ± 3.0 MPaであった。0.1 μm 程度の小さなリンクルが生成するPAやPSでは、CSフィルムとのMartens硬さの差はわずかであり、10 μm 程度の大きなリンクルが生成するLSでは、CSフィルムよりも約3倍高い値であった。また、Martens硬さが上がるにつれて、リンクルサイズも大きくなったことから、本系におけるリンクルのサイズには、PICスキン層の弾性率が関与していることが明らかになった。

余談であるが、PICスキン層を用いて調製した乾燥リンクルは、文字通り乾燥によって発生するので、再水和によって消失する。乾燥した肌に潤いを付与する化粧品で小じわ(乾燥じわ)が目立たなくなる現象は、乾燥じわの科学の観点からも正しい現象のようである。

4. 二重スキン層の調製で生成する表面構造

前項で述べたアニオン性高分子は、水中で一本鎖構造をとるが、水中で高次構造を形成するアニオン性高分子を用いるとどのような表面構造が形成するのであろうか? κ -及び ι -カラギーナン(CG)は、80°Cでは一本鎖構造をとるが、室温付近では、二重らせん構造を形成し、ゲルになる²¹⁾。また、 κ -CGは、二重らせん構造が凝集

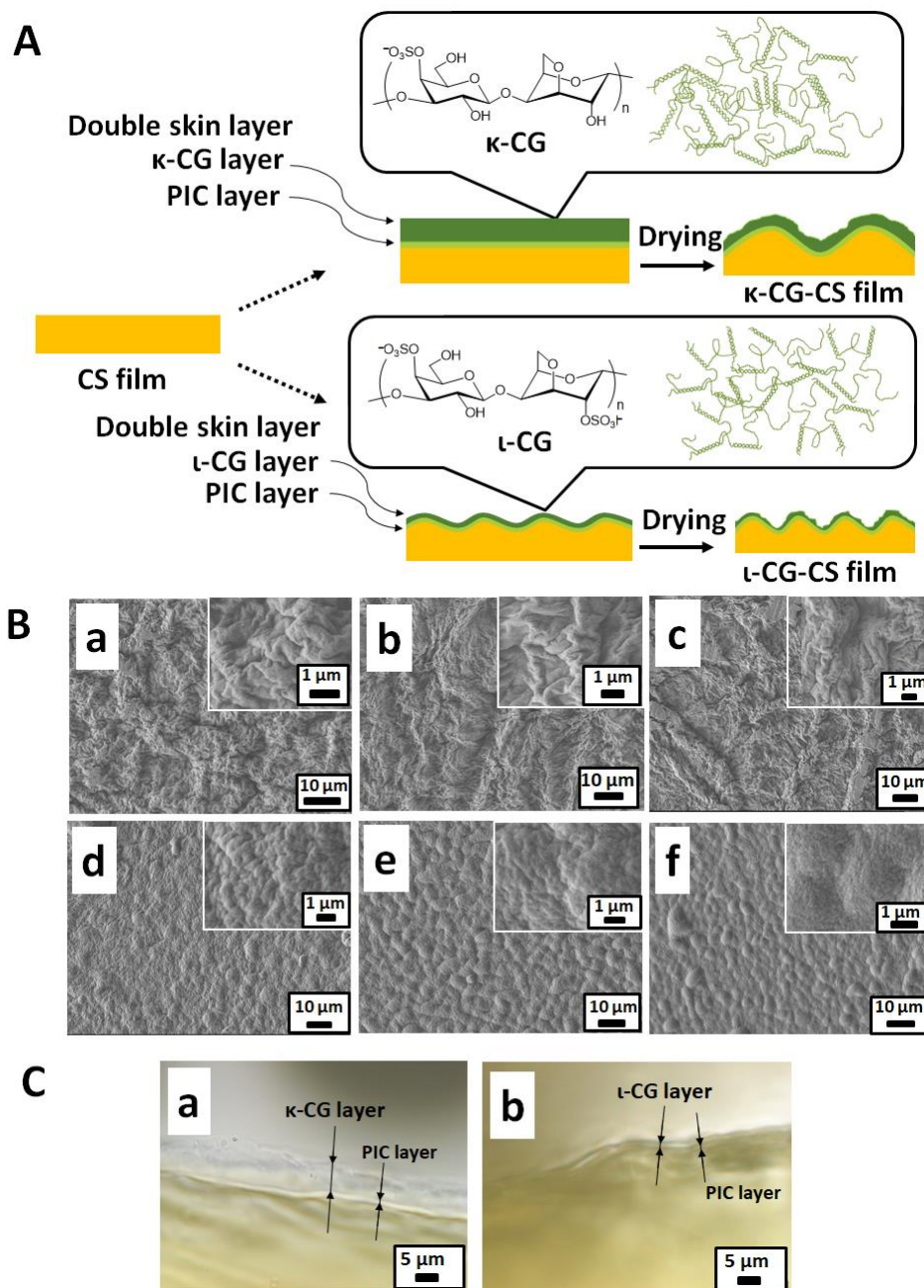


Figure 6. Graphical image of preparation of κ - and ι -CG-CS films (A). SEM images of κ -CG-CS films prepared via 6, 12, 72-h washing (B-a, b, or c, respectively) and ι -CG-CS films prepared via 6, 12, or 72-h washing (B-d, e, or f, respectively). Optical microscopic images of the cross sections of κ - and ι -CG-CS films (C-a and b). Reproduced from Ref. 22.

することで ι -CGよりも硬いゲルを形成することが知られている。 κ -及び ι -CGを用いてPICスキン層を調製すると、CG層がPIC層を介して表面に固定化されると考えられ、このようなPIC層とCG層からなる二重スキン層の乾燥で得られる表面構造には興味を持たれる。そこで、二重ス

キン層から生成する乾燥リンクルについて研究を行った²²⁾(Figure 6A)。

κ -及び ι -CGを室温で24時間攪拌することで、1.0 wt% κ -及び ι -CG水溶液を調製した。CSフィルムを水に浸漬し膨潤させた後に、1.0 wt% κ -又は ι -CG水溶液に30°Cで24時間浸漬し

た。フィルムを純水に 30°C で 12 時間浸漬することで除去可能な CG を取り除き、40°C で乾燥した。

κ -CG-CS フィルムでは、1 μm 未満のランダムなリンクル構造とより大きなリンクル構造からなる階層的なリンクル構造が確認された (Figure 6B-b)。また、洗浄時間を 6 時間及び 72 時間に変えても形態に大きな変化は見られなかった。CHNS 元素分析の結果から、洗浄時間が増えても CG 量はあまり変化していないことが分かった。 κ -CG-CS フィルム断面の光学顕微鏡観察を行った結果、約 9 μm の κ -CG 層と約 1 μm の PIC 層が観察された (Figure 6C-a)。このことから、表面には CG 層と PIC 層からなる二重スキン層が生成していることが分かった。

ι -CG-CS フィルムは、1 μm 未満のバンプ構造と 5 μm 程度のバンプ構造からなる階層的なバンプが一様に観察された (Figure 6-e)。洗浄時間を 6 時間に減らすと大きなバンプ構造の生成が不均一になり、洗浄 72 時間では、小さなバンプ構造が消失した。光学顕微鏡にて、洗浄 12 時間の ι -CG-CS フィルムの断面を観察した結果、約 1 μm 程度の CG 層と PIC 層が確認できた (Figure 6C-b)。一方で、72 時間では明確な CG 層は観察できなかった。そこで、フィルムの CHNS 元素分析を行ったところ、洗浄 6, 12, 72 時間後のフィルム中の CG 含有率は、それぞれ 2.7, 2.1, 1.9 wt% と見積もられた。12 時間から 72 時間に洗浄時間が伸びても CG 含有率はあまり変わらなかったこと及び 72 時間洗浄したフィルムでは CG 層が確認できなかったことから、大部分の CG は、PIC 層内に存在することが示唆された。また、洗浄時間が 6 時間から 12 時間に伸びると CG 含有率が 0.6 wt% 低下したことから、洗浄 6 時間後のフィルムで大きなバンプ構造がまばらな理由として、表面に余分に付着した CG によってバンプ構造が覆われていることが考えられた。

CG 層と PIC 層からなる二重スキン層の生成によって階層的なリンクルが生成するメカニズムの解明に取り組んだ。CG 層と CS フィルム間の収縮率の違いで発生するリンクルについて検証するために、CS フィルム、 κ -及び ι -CG キャスト

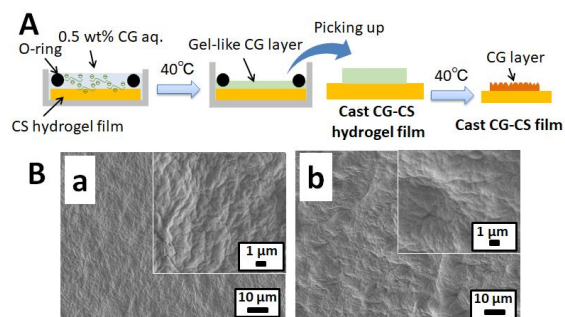


Figure 7. Graphical image of preparation of cast κ - and ι -CG-CS films (A). SEM images of cast κ - and ι -CG-CS films and CG-CS films (B-a and b, respectively). Reproduced from Ref. 22.

フィルムの膨潤-収縮挙動及び弾性率を調査した。その結果、 κ -CG キャストフィルムは、CS フィルムよりも硬く、膨潤-収縮による水平方向の体積変化を起こしにくいことが分かった。これは、 κ -CG 層が乾燥による CS フィルムとの歪みのズレを誘起することを意味することから、 κ -CG-CS フィルムで見られた大きいリンクル構造は、CG 層と CS 層の収縮率の違いによって発生したと考えられた。一方で ι -CG キャストフィルムは膨潤によってほぼ粘性流体になることから、 ι -CG 層は歪みのズレを誘起しないと考えられた。

CG 層の乾燥凝集によって生成する表面構造を検証するために、上記の膨潤-収縮挙動を検証した後の乾燥収縮した κ -及び ι -CG キャストフィルム表面を SEM 観察した。 ι -CG のキャストフィルムでは、乾燥後のフィルム表面に微細構造は観察されなかったが、 κ -CG のキャストフィルムでは、 κ -CG-CS フィルムで見られた小さなリンクル構造と同程度の大きさの凹凸構造が観察された。このことから、 κ -CG で見られた小さなリンクル構造は、 κ -CG 層の乾燥凝集によって生成したことが示唆された。これらのことから、 κ -CG-CS フィルムにおける階層的なリンクル構造は、CG 層と CS フィルムの収縮率の差によるリンクルと κ -CG 層の乾燥凝集によって生成すると考えられた。

CG-CS フィルムの乾燥では、CG 層と CS フィルムの乾燥が同時に起きることから、CS フィルムの乾燥に伴う収縮が CG 層の乾燥凝集に影響

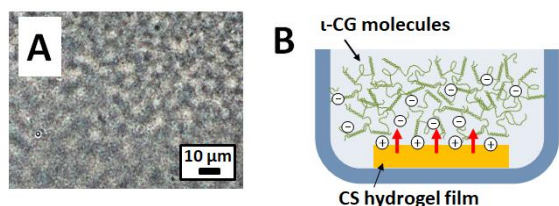


Figure 8. Optical microscopic images of the cross sections of ι -CG-CS film before drying (A). Graphical image of bumps formation for ι -CG-CS film during immersion process (B). Reproduced from Ref. 22.

を与えることが予想された。そこで、厚い CG ヒドロゲル層を有する CS ヒドロゲルフィルムを調製し、乾燥することで、CS フィルムの収縮の影響を受けた CG 層を調製した (Figure 7A)。 κ -CG では、 κ -CG-CS フィルムで見られた小さなリンクルと同程度のサイズのリンクルが観察され、 ι -CG では、 ι -CG-CS フィルムで見られた小さなバンプと同程度のサイズのバンプ構造が観察された (Figure 7B)。これらのことから、小さなリンクル及びバンプは、 κ -及び ι -CG 層の CS フィルム上での乾燥凝集によって誘起された構造であることが明らかになった。

リンクルと乾燥凝集では、 ι -CG で見られた大きなバンプ構造の生成メカニズムは説明できなかった。そこで、別の現象が関与していると予想し、 ι -CG-CS フィルムの乾燥前のフィルム表面の光学顕微鏡観察を行った。その結果、大きいバンプ構造と同程度の大きさのバンプ構造が観察された (Figure 8A)。このことから、 ι -CG で見られた大きなバンプ構造は、CS フィルムを ι -CG 水溶液に浸漬する段階で生成することが明らかになった。

このような半球状のバンプ構造は、前項で高粘度の AG を用いて PIC スキン層を形成した場合でも見られた。 ι -CG との共通点は、高粘度水溶液という点にある。高粘度な水溶液中では、水溶液中でのアニオン性高分子同士の相互作用やからみ合いが強いので、PIC スキン層の生成と同時に、CS が水溶液中のアニオン性高分子に引き付けられて剥がれる現象が起きうると考えられる (Figure 8B)。この剥がれる過程の初期段階で、CS フィルム表面が隆起するが、PIC

スキン層の生成によってフィルム表面が硬化するので、バンプ構造が維持されたと考えられた。また、高粘度な AG を用いた時に、バンプ構造上に見られる同程度のサイズの粒子は、完全に剥がれた PIC 層と考えられた (Figure 4B-b)。本現象の詳細なメカニズムは検証中である。

5. 乾燥リンクルの形態制御

乾燥によってランダムなリンクルが生成する時は、乾燥によって発生する応力 (乾燥応力) の方向が制限されない (Figure 9E)。すなわち、アモルファスな CS フィルムにおける乾燥応力の方向は無秩序なのでランダムなリンクルが発生したと考えられる。一方、乾燥時に一軸方向に引張応力を加えると、引張方向への乾燥応力の発生が抑制されるので、引張方向に配向したリンクルが生成すると考えられる (Figure 9A)。そこで、FE と HRP を用いてスキン層を形成し、一軸

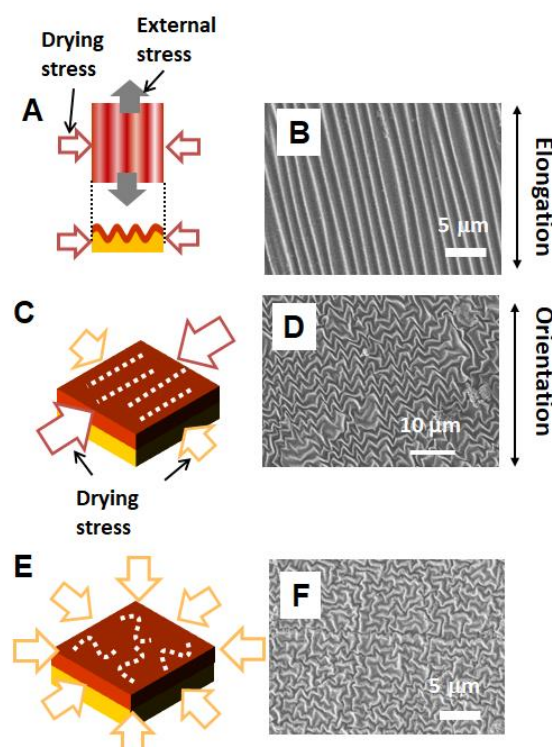


Figure 9. Graphical illustrations for generated drying stresses upon external stress (A), and in the oriented film (C) and amorphous film (E). SEM images of respective resulting films (B, D, and F, respectively). Reproduced from Ref. 16 and 23.

方向に引張応力を加えながらフィルムを乾燥した。すると、予想通り、リンクルの配向を引張方向に制御することができた¹⁴⁾ (Figure 9B)。また、外部応力の強さによってある程度リンクル波長が制御できることも分かった¹⁶⁾。

CS フィルムの配向性を制御することで乾燥応力の方向性を制御できると考えられる。そこで、CS 配向フィルム表面へのリンクル形成を実施した²³⁾。CS フィルムを加湿後、延伸することで配向 CS フィルムを調製し、FE を用いてリンクル形成を行った。その結果、配向箇所にはヘリンボーン様のリンクルが観察された (Figure 9D)。延伸により配向した CS フィルムは、エントロピー弾性によって、乾燥時に延伸とは逆方向に収縮することから、この乾燥応力が支配的になることによってヘリンボーン様のリンクルが生成したと考えられた (Figure 9C)。これらの知見から、乾燥によって発生するリンクルの形態は、乾燥応力の方向性に支配されていることが分かった。また、表面硬度測定で用いた平滑なフィルムの調製で述べた通り、スキン層を構築した後でも、吸引濾水などで、CS フィルムを張り付けながら乾燥すると、リンクルの発生が抑制できる²⁰⁾。これはフィルムの水平方向への収縮が抑制されるからであり、乾燥リンクルの生成における水平方向の収縮の重要性がよく分かる知見である。

6. おわりに

CS フィルム表面にマイクロな乾燥リンクルが誘起される現象を偶然発見し、そのメカニズムの鍵がイオン架橋からなるスキン層の生成であることを見出した。そのイオン架橋構造から着想を得て PIC スキン層をデザインし、PIC スキン層の乾燥リンクルの調製への有効性を実証した。さらに、様々な分子構造のアニオン性高分子を用いることで、アニオン性高分子の分子構造によって生成するリンクルの波長が約 0.15~15 μm という幅広い範囲で変化することが分かった。また、PIC スキン層が硬くなるにつれて波長も上がることから、応力による歪みで発生するリンクルと同様にスキン層の弾性率が乾燥リンクルのサイズ制御に重要なパラメーターであることが分かった。また、アニオン性高分子が高粘度な場合は、PIC

層が剥がれる過程で生成すると思われるバンプ構造が得られる興味深い現象も発見できた。 κ -及び τ -CG のようなゲルを形成するアニオン性高分子を用いると PIC 層と CG 層からなる二重スキン層が生成し、乾燥によって、それぞれ、大きなリンクルと小さなリンクル及び大きなバンプと小さなバンプが共存する階層的な微細構造が生成することが分かった。これらの構造の生成には、リンクル形成や上述の PIC 層が剥がれる過程でのバンプの生成、CG 層の乾燥凝集が関与していることを明らかにした。

我々の乾燥リンクルに関するこれまでの知見をまとめると、乾燥リンクルを誘起する鍵は、『基盤よりも適度に硬く、乾燥収縮率が低いスキン層の存在』と『基盤による水平方向の乾燥収縮』にある。また、サイズの制御にはスキン層の弾性率制御が効果的である。このように CS フィルムのリンクル形成現象を体系化することで乾燥リンクルに対する理解が深まった。乾燥リンクルは、生体高分子のような力学的に弱い材料にリンクルを調製するのに適していると考えられる。上述の通り、PIC スキン層で調製したリンクルは、再水和によって消失するが、疎水性の高いスキン層²⁴⁾や脱水縮合反応で固定化したスキン層¹⁶⁾は、水中でリンクル形態を維持することができる。これらのリンクルは、サイズや表面電荷の違いによって細胞接着性に顕著な違いが見られる。リンクルのサイズや形態を利用した細胞機能のさらなる制御が期待される。また、乾燥リンクルを誘起するスキン層は、ゲル表面へのリンクル形成にも適用できると考えられる²⁵⁾。また、光や熱のような外部刺激により収縮する基盤や弾性率が変化する基盤と組み合わせることで動的なリンクルの調製にも利用できると考えられる。以上から、ここでの知見は、リンクル形状や動的性質を利用した細胞培養基材²⁶⁾やリンクルのアンカー効果を利用した強力な生体接着剤²⁷⁾などバイオマテリアルの開発に役立つと期待される。

さらに、本研究では、一様なバンプ表面をつくるための新しい手がかりも得た。ここでは割愛したが、リンクル形成のメカニズム解明や形態制御の検討過程でフィルムの表面構造や内部構造を制御するための新しい発見もあった^{28,29)}。

これらの予期せずに行われた知見も新しい研究展開につながることを期待される。

6. 謝辞

本研究は、鳥取大学工学部化学バイオ系学科 齋本・伊福研究室で行われた。また、本研究は、JSPS KAKENHI 16K05916と19K05616の補助を受けて行った。

参考文献

- 1) L. Ionov, *J. Mater. Chem.*, **2012**, *22*, 19366-19375.
- 2) J. Genzer, J. Groenewold, *Soft Matter*, **2006**, *2*, 310-323.
- 3) K. Efimenko, J. Genzer et al. *Nat. Mater.*, **2005**, *4*, 293-297.
- 4) J. Y. Chung, A. J. Nolte, C. M. Stafford, *Adv Mater*, **2011**, *23*, 349-368.
- 5) M. Kato, Y. Tsuboi, A. Kikuchi, T. Asoh, *J. Phys. Chem. B*, **2016**, *120*, 22, 5042-5046.
- 6) T. L. Chen, C. Y. Huang, Y. T. Xie, Y. Y. Chiang, Y. M. Chen, H. Y. Hsueh, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2019**, *11*, 40875-40885.
- 7) K. Efimenko, J. Finlay, M. E. Callow, J. A. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2009**, *1*, 1031-1040.
- 8) F. Zou, H. Zhou, D. Y. Jeong, J. Kwon, S. U. Eom, T. J. Park, S. W. Hong, J. Lee, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2017**, *9*, 1343-1351.
- 9) H. Endo, Y. Mochizuki, M. Tamura, T. Kawai, *Langmuir*, **2013**, *29*, 15058-15064
- 10) C. M. Chen, S. Yang, *Polym Int* **2012**, *61*, 1041-1047.
- 11) Y.-Y. Chang, B.-C. Jiang, P.-Y. Chen, Y.-Y. Chiang, *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, **2021**, *126*, 288-296.
- 12) N. Bowden, S. Brittain, A. G. Evans, J. W. Hutchinson, G. M. Whitesides, *Nature*, **1998**, *393*, 146-149.
- 13) L. R. J. Scarratt, B. S. Hoatson, E. S. Wood, B. S. Hawkett, C. Neto, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, **2016**, *8*, 6743-6750
- 14) H. Izawa., N. Okuda, S. Ifuku, M. Morimoto, H. Saimoto., O. J. Rojas, *ChemSusChem*, **2015**, *8*, 3892-3896.
- 15) H. Izawa, *Polymer Journal*, **2017**, *49*, 759-765.
- 16) H. Izawa, Y. Miyazaki, S. Ifuku, M. Morimoto, H. Saimoto, *Langmuir*, **2016**, *32* 12799-12804.
- 17) H. Izawa, Y. Dote, S. Ifuku, M. Morimoto, H. Saimoto, *Carbohydr. Polym.*, **2017**, *173*, 519-525.
- 18) C. Foppoli, R. Coccia, C. Blarzino, M. A. Rosei, *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2000**, *32* 657-663.
- 19) Izawa, H., Miyazaki, Y., Yonemura, T., Ito, N., Okamoto, Y., Ifuku, S., Morimoto, M., Saimoto, H., *Polymer Journal*, **51**, 675-683 (2019).
- 20) . H. Izawa, S. Ishisaka, H. Saimoto, S. Ifuku, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2022**, *95*, 1289-1295.
- 21) N. A. Chudasama, R. A. Sequeira, K. Moradiya, K. Prasad, *Molecules*, **2021**, *26*(8), 2608.
- 22) H. Izawa, T. Yonemura, Y. Nakamura, Y. Toyoshima, M. Kawakami, H. Saimoto, S. Ifuku, *Carbohydr. Polym.*, **2022**, *284*, 119224.
- 23) H. Izawa, Y. Toyoshima, M. Morimoto, H. Saimoto, S. Ifuku, *Chem. Lett.*, **2021**, *50*, 252-255.
- 24) H. Izawa, N. Okuda, T. Yonemura, K. Kuroda, K. Ochi, S. Ifuku, M. Morimoto, H. Saimoto, M. Noda, K. Azuma, Y. Okamoto, N. Ito, *Colloids and Interfaces*, **2018**, *2*, 15.
- 25) 柏原友香, 麻生隆彬, 宇山浩, *材料表面*, **2020**, *5*, 132-140.
- 26) M. Guvendiren, J. A. Burdick, *Biomaterials*, **2010**, *31*, 6511-6518.
- 27) Q. Li, P. Zhang, C. Yang, H. Duan, W. Hong, *Extreme Mech. Lett.*, **2021**, *43*, 101193.
- 28) H. Izawa, H. Kajimoto, M. Morimoto, H. Saimoto, S. Ifuku, *RSC Advances*, **2020**, *10*, 19730-19735.
- 29) 井澤浩則、豊嶋悠太、川上桃花、伊福伸介、 λ -カラギーナンの微細バンプ形成現象、第71回高分子討論会、IS18.