

動的光散乱法を利用したコロイド分散系の研究

— ELSZ-2000ZSの活用事例 —

Study on Colloidal Dispersion Systems Using Dynamic Light Scattering

— Application Examples of ELSZ-2000ZS —

山下 裕司・平尾 哲二

Yuji YAMASHITA and Tetsuji HIRAO

2015年度に薬学部共通機器として導入した「ゼータ電位・粒径・分子量測定システム ELSZ-2000ZS」は、数nm～数 μ mのコロイド分散系を評価する装置である。本装置は、従来の粒子サイズとゼータ電位の測定に加え、分子量測定を行うことが可能である。さらに、温度グラジエント機能を付帯しており、ますます利便性が高まっている。本研究では、3つのコロイド分散系、(1)一般的な界面活性剤水溶液が形成するミセルサイズとその温度依存性、(2)タンパク質粒子のサイズと凝集状態、(3)市販の豆乳および牛乳の粒子サイズとゼータ電位、についてELSZ-2000ZSを用いた測定を実施した。これらの研究から、コロイド分散系研究におけるELSZ-2000ZSの有用性が見出された。

1 緒言

医薬品、化粧品、トイレットリー、食品、塗料など、あらゆる分野でハードまたはソフトな粒子が媒質中に分散され、その分散粒子の大きさや界面の性質が製品としての機能性を左右する。界面が創り出されることは系中に2つ以上の相溶しない物質が存在することに起因し、多くの場合、水溶性物質と油溶性物質、または固体粒子から構成される。互いに相溶する化合物も存在するが、全てを溶解することが必ずしも機能性面で好ましいとは限らない。それゆえ、目的に適した様々な表面状態、大きさの分散粒子が要求され、昨今では科学技術の進展によりそれらを自由に設計することが可能となってきた。多くの場合この分散粒子の大きさはコロイド領域に属する。

コロイドとは、一般に1nmから数十 μ mのサイズの粒子の分散系を指し、分子のサイズから可視サイズ以下の領域に該当する。図1にはコロイド粒子の一般例を示しており、身の回りの物の多くが“コロイド”と呼ばれる領域にあることが分かる。我々の研究対象であるエマルション、ミセル、リポソームなどの分子集合体に加え、染料や粉体、高分子などの医薬・食品・化粧品原料、さらに細胞や微小器官までコロイド領域に含まれる。粒子としての“大きさ”はコロイド分野において非常に重要なファクターであり、前述の機能性や系の安定性(例えばエマルションのクリーミング)に加え、化粧品のテクスチャー、食品の食感などヒトの感性に影響してくる。それゆえ、分散粒子の大きさを制御すること、および正確に評価することは学術だけでなく産業上も必要不可欠である。

コロイド状の分散粒子を評価する方法としては、光学顕微鏡、電子顕微鏡、光散乱法、X線・中性子散乱法、などが挙げられる(図1)。それぞれ適用できる条件があり、主に“大きさ”で使い分けられる。電子顕微鏡は広域なサイズ領域に適用できるが、現在のコロイド評価法の主流

連絡先：山下裕司 yyamashita@cis.ac.jp

千葉科学大学薬学部生命薬科学科

Department of Pharmaceutical and Life Sciences, Faculty of Pharmacy, Chiba Institute of Science

(2016年9月30日受付, 2016年12月27日受理)

である透過型電子顕微鏡では、ネガティブ染色法、凍結断面法 (FF-TEM)、およびクライオ法 (Cryo-TEM) が用いられ、染色や凍結といったサンプルの前処理が必要になってくる。個々の粒子の分散状態や形状を直接観察する意味で顕微鏡は非常に強力なツールではあるが、測定対象がソフトマターの場合は前処理による構造変化や長時間の測定など問題点はある。溶液状態での分散粒子の構造情報を得るためには電磁波の散乱法を用いるのが一般的である。粒子の大きさが小さくなる (数十 nm) と X 線や中性子線を使った方法が利用されるが、これらの電子線の波長 ($\lambda=0.1\sim 1\text{nm}$) では大きなサイズの粒子を測定することはできない。一方で、光散乱法で使用される波長は $400\sim 700\text{nm}$ であり、検出する散乱角度によってはマイクロオーダーまで測定することが可能である。

千葉科学大学薬学部では、2015 年度に共通機器として「ゼータ電位・粒径・分子量測定システム ELSZ-2000ZS」を導入した (図2)。本装置は、コロイド粒子のサイズ、分散粒子の表面電位 (ゼータ電位)、およびポリマーなどの分子量を測定することができ、温度のグラジエント機能を付帯している。光源に高出力半導体レーザー ($\lambda=660\text{nm}$)、検出器に高感度 APD (Avalanche Photo Diode) を用いており、従来の装置に比べ検出感度が向

上している。そこで本研究では、導入した機器の機能性および利便性を明らかにすることを目的として種々のコロイド分散系の粒子サイズとゼータ電位を評価した。

2 実験

2.1 測定対象 (コロイド分散系)

本研究では以下3つのコロイド分散系について粒子サイズとゼータ電位を評価した。

- **ミセル水溶液**
界面活性剤にヘキサオキシエチレンドデシルエーテル (C_{12}EO_6 、純度 > 99%、日光ケミカルズ)、溶媒として超純水 (うるぴゅあ、比抵抗 $> 18\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$) を用いた。臨界ミセル濃度 ($\text{CMC}=8.70 \times 10^{-5}$)¹⁾ 以上の 1 重量% C_{12}EO_6 水溶液をサンプルとした。
- **タンパク質水溶液 (ウシ血清アルブミン: BSA)**
リン酸緩衝液 (pH=7.0, 0.1mol/L) に BSA (Sigma-Aldrich, fatty acid free) を溶解し、サンプルとして供した。BSA 濃度は 3mg/mL とした。
- **豆乳、牛乳**
市販の豆乳 (3種) と牛乳 (6種) を購入し、超純水で 10 倍希釈した溶液をサンプルとした。各牛乳および豆乳のパッケージに記載の栄養成分を表1に示す。

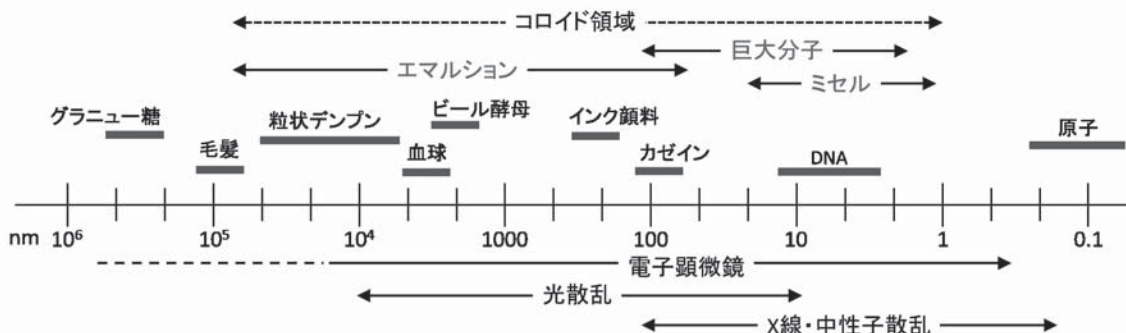


図1. コロイド領域にある物質の代表例と種々の粒子サイズ測定法

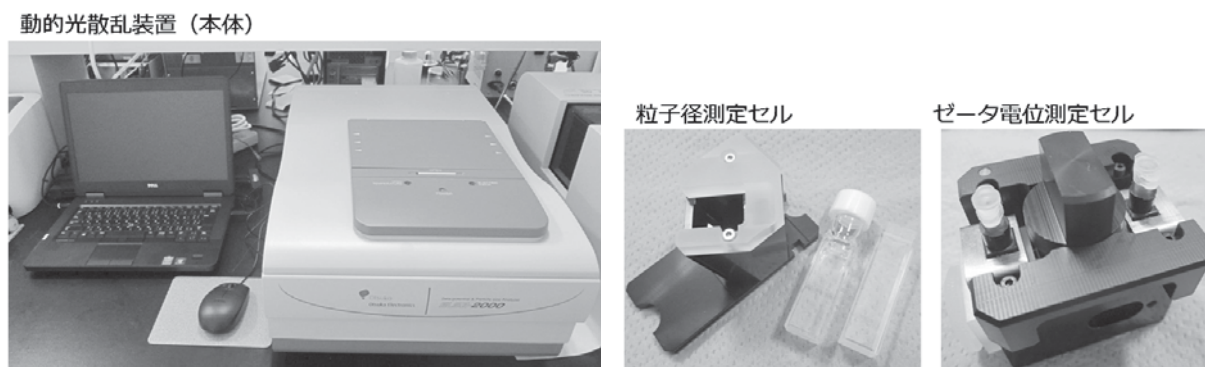


図2. ELSZ-2000ZS装置外観と各種測定セル (いずれも標準セル)

2. 2 動的光散乱装置 ELSZ-2000ZS

本研究では、大塚電子(株)製のELSZ-2000ZSを用いて分散粒子サイズ及びゼータ電位の測定を実施した。測定条件を以下に示す。

● 分散粒子サイズ

本装置での粒子サイズの評価には光子相関法が用いられている。光子相関法は、分散粒子のブラウン運動を利用した解析法であり、粒子サイズの大小による運動性の変化を散乱光強度の揺らぎ(動的光散乱)として捉える方法である。サンプルセルに角型の石英セル(キャップ付き、図2)を使用し、0.5mL以上の溶液を封入した。いずれのサンプルも溶媒を水(屈折率=1.3328、粘度=0.8878cp、誘電率=78.3(25°C))として設定し、キュムラント法により粒子サイズを解析した。温度グラジエント測定では、付属パソコンに登録されている各温度での溶媒条件(屈折率、粘度、誘電率)を用いた。

● ゼータ電位

ゼータ電位の評価には電気泳動光散乱法(レーザードップラー法)が使用されている。電気泳動光散乱法は、電場印加時に生じる分散粒子の電気泳動速度からゼータ電位を算出している。なお、電気泳動速度は散乱光のドップラーシフト量から求められ

る。本研究では、ゼータ電位測定用の標準セルユニット(サンプル量~1mL、図2)を使用した。いずれのサンプルも溶媒を水(屈折率=1.3328、粘度=0.8878cp、誘電率=78.3(25°C))として設定し、Smoluchowskiの式からゼータ電位を解析した。

3 結果及び考察

3. 1 ミセル溶液

比較的親水性の高いC₁₂EO₆は水溶液中でミセルを形成する。中性子小角散乱から、その形状は室温付近でほぼ球状で、ミセルサイズは約5nmと報告されている²⁾。図3(a)には、25°Cにおける1重量% C₁₂EO₆水溶液の動的光散乱(DLS: Dynamic Light Scattering)測定で得られる粒子サイズ(D_H)の分布曲線を示す。ピークトップが平均D_Hを表し、ピークの幅がD_Hの分布である。ミセル水溶液は平衡系であるため比較的単分散のD_H分布を示し、その平均D_H=7.1nmは文献値とほぼ一致した^{2,3)}。

次に、本装置の特徴である温度グラジエント機能について検証した。今回使用した界面活性剤は温度感受性が高く、高温領域で2相分離する。いわゆる曇点現象であり、1重量% C₁₂EO₆水溶液の曇点(T_{CP})は50.9°CであることがDSC測定から明らかにされている⁴⁾。さらに、T_{CP}より約25~30°C低い温度でミセルの構造転移

表1 3種の豆乳、6種の牛乳の成分表(全て200mLあたりの含有量)とDLSで測定した平均粒子サイズ(D_H)。D_H欄の上段は主ピーク、下段は副ピークの粒子サイズ(図6参照)。

種類別		豆乳1	豆乳2	豆乳3	牛乳1 牛乳	牛乳2 乳飲料	牛乳3 牛乳	牛乳4 乳飲料	牛乳5 乳飲料	牛乳6 牛乳
大豆固形分	%	11	8	7						
無脂肪固形分	%				8.3	9	8.5	8.6	8.9	8.3
乳脂肪分	%				3.5	1.1	3.7	3.9	1.5	3.5
エネルギー	kcal	123	91	117	133	91	137	146	101	133
タンパク質	g	11.0	8.2	7.7	6.6	6.9	6.8	6.2	6.4	6.5
脂質	g	7.0	4.8	7.7	7.6	2.1	7.8	8.4	3.4	7.6
炭水化物	g	4.0	3.8	4.1	9.5	11	9.9	11.4	11.2	9.6
ナトリウム	mg	0	10	181	85	250	85	93	109	85
カリウム	mg	436	381	329						
カルシウム	mg	22	30	109	227	680	227	216	376	227
マグネシウム	mg	67	52	42						
鉄	mg	1.2	1.7	0.9					4.1	
亜鉛	mg	1.0	0	0						
コレステロール	mg	0	0	0						
イソフラボン	mg	94	68	43						
ビタミンE	mg		0.8							
ビタミンD	mg					0.00275		0.0031		
レシチン	mg			324						
大豆サポニン	mg			77						
葉酸	mg								0.104	
平均D _H (DLS)	nm	413.2	327.5	585.7	231.0	291.5	205.7	259.5	129.2	205.7
					1047.6			739.1	932.6	413.2

(T_{PT})が生じる^{3,5)}。これらの相転移と構造転移が本装置で検出できるか調べた。10°Cから55°Cまで温度を上昇させた時の粒子サイズの変化を図3 (b) に示す。温度ステップは任意に決めることが可能であり、 T_{CP} と T_{PT} 付近では1°C間隔で測定している。10~20°Cの範囲ではミセルサイズ(D_H)はほぼ一定であるが、20°Cを超えると徐々に D_H は増加した。さらに曇点付近では急激なミセル成長が起こるとともに、ミセルに相当するピーク以外に数 μm サイズの粒子が観察されている。すなわち、曇点付近ではミセルとエマルション滴が共存しており、本測定から異なるサイズの分散粒子を分離することも分かった。一方で、DLS測定では、拡散係数からEinstein-Stokesの式を用いて粒子サイズを算出しているため、原理的に分散粒子の形状まで把握することはできない。ここで与えるミセルサイズは流体力学直径(D_H)であり、水和したミセルの回転体を粒子の大きさとして算出している。すなわち、ミセルの形状が棒状または紐状であっても球状の粒子として見做されている。しかしながら、ミセルが球状を維持したまま膨潤することはないので、少なくとも D_H の増加がミセルサイズの増加を示していると言える。

本測定では各温度における測定前保持時間を20~30分に設定したため、温度グラジエント機能を使用した測定には10~12時間を要したが、簡便かつ効率的に実験を行うことができた。ただし、本結果のような数~100nmの範囲の粒子サイズについては温度変化に対して感度良く測定できたが、数 μm サイズの粒子まで成長する場合は、測定を2回に分けることが好ましい。これは解析法の設定の問題であるが、本装置では解析する

粒子サイズを予め設定するため、設定するサイズ範囲(例えば、0.1~1000nm、10~10000nm、など)によって解析精度が変化する。この点を注意して実験を行えば、正確なデータが得られるようである。

3.2 BSA水溶液

BSAは、タンパク質研究において広く普及したモデル物質であり、本研究でもタンパク質のコロイド的性質を調べるために利用した。一般に、BSAはpHに依存して2次構造および3次構造が変化し、低・高pHでは一部の α ヘリックス構造が壊れ、疎水性ドメインが露出されるためBSA分子同士の凝集が促進すると報告されている⁶⁾。また、温度によっても変性が起こり、50°C付近からBSA中の α ヘリックス含量が低下し、80°Cになると α ヘリックス含量は約35%となる。このBSAの α ヘリックス構造変化は、50°Cまでの熱変性では可逆的であり、50°Cから25°Cに冷却すると元の状態(α ヘリックス含量65%)まで回復するが、80°Cでは完全には戻らない(約50%までは回復)⁷⁾。

本研究では、この2次構造の変化に伴う D_H の変化を温度グラジエント機能を使用して調べた。図4 (a) は、経過時間に対して D_H をプロットしており、また同図に温度プログラムを示してある。温度プログラムは、(1) 25°Cから急激に80°Cまで昇温、(2) 300分間80°Cで保持、(3) 80°Cから25°Cに急冷、(4) 25°Cで120分保持、である。25°Cから80°Cに達する時間は約5分、80°Cから25°Cまで冷却するのに要した時間は約7分であった。まず、熱履歴のない25°CでのBSA水溶液の平均 D_H は9.3nmであり、文献値の4~8nm^{6,8,9)}よりやや大きかった。80°C

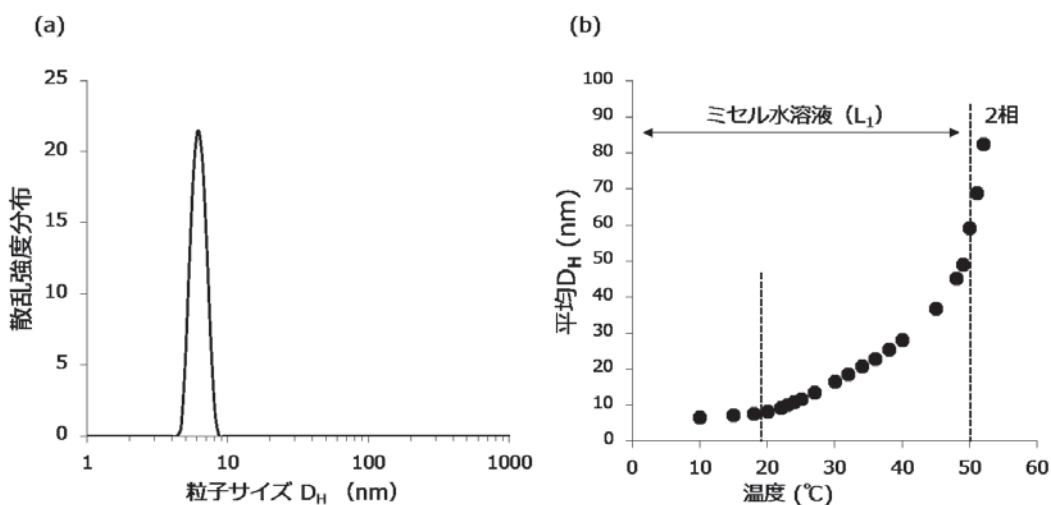


図3. 1重量%界面活性剤(C_{12}EO_6)水溶液の(a)粒子サイズ(D_H)測定結果、および(b)温度を関数とした時の平均 D_H の変化

点線は構造転移点(20°C付近)と曇点(50°C付近)の相境界を表す。

の加温状態では時間とともに D_H は単調に増加し、300分の時点では平均 $D_H=126.2\text{nm}$ であった。25°Cまで冷却後、平均 D_H は152.0nmまでさらに増加していたが、これは冷却過程のタイムラグ(約7分)による D_H の増加と考えられる。一旦25°Cまで冷却すると D_H に変化は見られず、サイズ分布もほぼ一定であることが分かった(図4(b))。BSA本来の水溶液中の粒子サイズが9nmであることから、80°Cの熱処理による D_H の増加はBSAの凝集体が形成されていることを示しており、300分までは定常状態に達せず、時間に比例して増加するだけであった。Borzovaらの報告¹⁰⁾によれば、約200分で凝集平衡に至るとされており、またHondaらの実験⁸⁾では80°Cで10分以内に D_H は一定値に達している。さらにHondaら

の測定では数十 μm の凝集体を観測している。この相違が生じた理由として、本DLS装置の測定状態に因るものと考えられる。本装置は常に静置状態であるため、サンプル中は熱拡散しか起こらず、文献の測定法では物理的な対流が少なからず生じる。すなわち、熱エネルギーのみで十分に分散できない巨大粒子が沈降した可能性がある。サンプルを目視観察すると、確かに80°Cに静置してから1時間後には透明度は低下し、3時間後には目視で確認できるほどの巨大粒子の沈殿が観察された(図5)。この凝集体はフィルム状であり、偏光顕微鏡観察から凝集体の広範囲で偏光が観察された(図5)。すなわち、BSA分子はランダムに凝集しておらず、ある規則性を持った凝集体を形成していると考えられる。

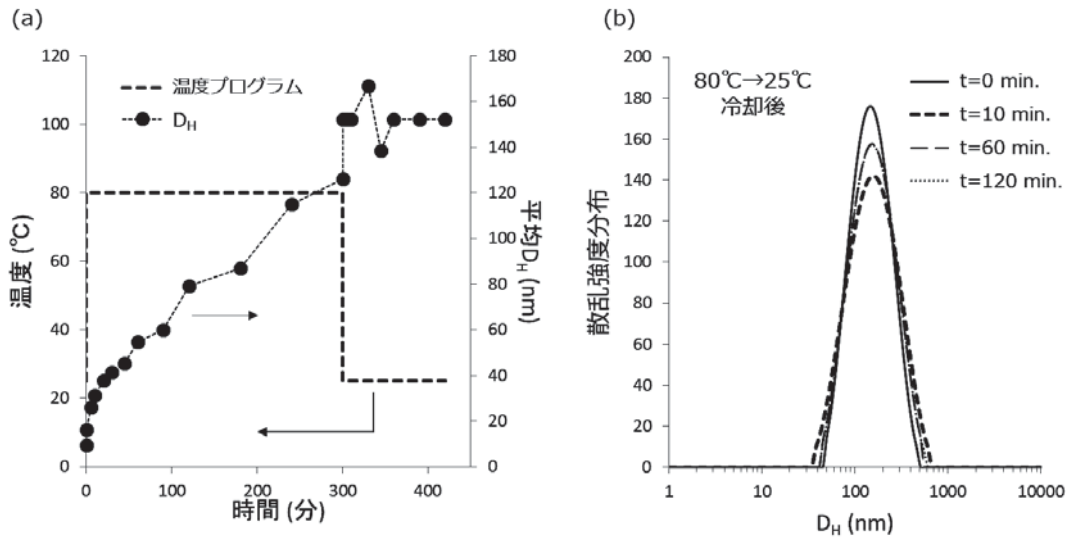


図4. BSA水溶液 (3mg/mL) での熱変性に伴う粒子サイズ (D_H) の変化
右図 (a) の破線は温度プログラムを、プロット (●) は平均 D_H を表す。左図 (b) は80°Cから25°Cに冷却した後の粒子サイズ分布の経時変化を表す。

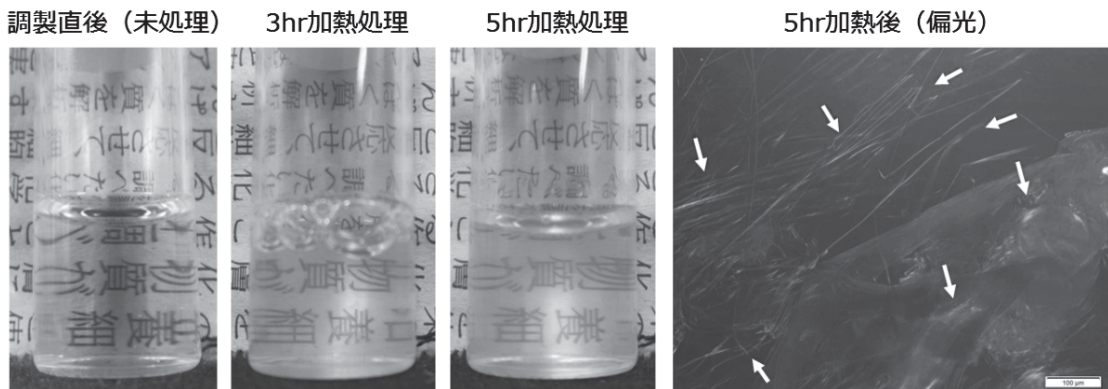


図5. 80°C加熱処理によるBSA水溶液 (3mg/mL) の外観変化 (左3枚)、および80°C 5時間加熱処理後に生成した沈殿物の偏光顕微鏡写真 (右)
顕微鏡写真中の白い部分は全て偏光を表し、特に偏光が強い箇所を矢印で示した。

Borzovaら¹⁰⁾は、反応性の異なる2つの変性BSAが存在することを提案しており、“highly reactive”と“lowerly reactive”な変性BSAに分けて凝集プロセスを説明している。目視および顕微鏡観察から数十 μm ～数mmの凝集体が観察された一方で、溶液全体は青白く、サブミクロンの分散粒子が存在していることが分かる。図4の結果から本測定法で観測した D_H は数十～数百nmであり、目視観察の結果と一致する。それゆえ、本測定では沈殿した凝集体は観測しておらず、小さな凝集体、すなわち反応性の低い変性BSAの凝集体を評価していたことが推察される。BSAの凝集は不可逆と言われているが、本結果も不可逆性を示しており、凝集体のサイズや変性BSAの反応性に関係なく不可逆性を示すことが示唆された。

本研究では実施していないが、大塚電子(株)ホームページ¹¹⁾に掲載されているBSAの分子量測定について紹介する。通常、散乱分光による分子量の測定には静的光散乱(SLS: Static Light Scattering)法が用いられ、溶質濃度に対し散乱光強度の絶対値の逆数(実際には $KC/R(\theta)$: 光学定数(K)、溶質濃度(C)、還元散乱強度($R(\theta)$ 、 θ は散乱角))をプロットすること(Debyeプロット)で切片から分子量、直線の傾きから第二ビリアル係数が求められる。掲載のデータ(4°C)から見積もったBSA分子量は62.9kDaであり、アミノ酸配列から算出されるBSAの分子量66kDa¹²⁾と同等である。従来は、DLSとSLS測定は別々の機器を使用する必要があったが、本装置は1台でこれらの測定を行うことが可能であり、また測定精度も従来機器と遜色のない結果であった。

3. 3 豆乳と牛乳

市販の豆乳3種類と牛乳6種類(牛乳1、3、6は牛乳(成分無調整)、牛乳2、4、5は乳飲料(成分添加有り))を用いて、エマルションの測定が可能か調べた。ここでの評価項目は、粒子サイズとゼータ電位である。豆乳、牛乳ともに水中油型のエマルション(O/Wエマルション)であり、測定条件の溶媒情報には連続相である水相(超純水)の物性値を入力した。実際の製品には多くの水溶性成分が含まれているため、測定条件が正確ではないことを断っておく。図6に各サンプル10倍希釈溶液の粒子サイズ測定結果を示す。本装置は溶質濃度の高い濃厚溶液でも測定可能であるが、今回は多重散乱の影響を回避するため超純水で希釈している。豆乳サンプルは、100～2000nm範囲の広い粒子サイズ分布を持ち、平均 D_H は300～600nmであった。その一方で、牛乳3を除くいずれの牛乳サンプルもピーク半値幅は豆乳に比べて狭く、良好なエマルションが形成されていることが分かる。しかしながら、牛乳サンプルのほとんどが2つのピーク(主ピーク、副ピーク)を示し、異なる分散状態に

ある粒子が共存していることが示唆された。表1の成分表から、1つのピークのみを示した牛乳2は乳脂肪分(脂質量)が少なく、無機塩類が多く含まれており、このいずれかが粒子サイズの分布に関係していると考えられる。この傾向は牛乳5にも見られており、2つのピークは観測されたが、主ピークに比べて副ピークは明らかに小さくなっている。

図7に各サンプルの脂質含有量または全無機塩含有量(200mLあたり)と主ピークの平均 D_H の関係を示す。豆乳サンプルでは脂質量または無機塩量に比例して D_H は増加したが、牛乳サンプルでは各成分との相関は見られなかった(図7)。また、豆乳サンプルに関しても無機塩成分ごとの相関はなく、無機塩全量に対してのみ比例関係が認められた(図7)。牛乳サンプルについて、エマルション由来と考えられる D_H の大きいピークでプロットすると脂質量とともに D_H が増加した(図8(a))。一方で、無機塩量に関しては低濃度で D_H 依存性がなく、高濃度になると D_H が減少する傾向が見られる(図8(b))。

豆乳や牛乳中の乳化作用成分は一部の脂質とタンパク質である¹³⁾。いずれも親水性の部位が荷電性を持ち、系のイオン強度により静電相互作用が変化する。一般的に静電斥力が遮蔽された場合、乳化剤の機能は低下し、エマルション粒子サイズは増加することが予想される。すなわち、図8(b)で得られた結果は静電効果と逆の傾向にあり、エマルションの粒子サイズは主に脂質成分の含有量によって決定されると考えられる。しかしながら、エマルションは非平衡系であるため、経過時間や製品の処理法(滅菌処理など)によって粒子の分散状態とサイズは影響を受ける。さらに、ここでは炭水化物やその他含有物の影響を考慮しておらず、無視できない場合もある。エマルションの研究は、これらの影響因子を厳密に管理した上で行う必要があるが、ここでは本装置を用いてエマルションの分散状態と粒子サイズを評価できることを示した。

次に、4つのエマルションサンプル(豆乳1、豆乳2、牛乳1、牛乳2)のゼータ電位測定結果を表2に示す。いずれのサンプルにおいても負のゼータ電位を示し、サンプル間に大きな違いは見られなかった。サンプル中の無機塩はエマルション界面に局在する乳化剤の静電力を遮蔽するため、その含有量に差が見られると推察されたが、予想に反してゼータ電位はほぼ同等であった。これは無機塩の絶対量に依るものかもしれない。

4 結論

本稿では、本学薬学部に新しく導入された動的光散乱装置ELSZ-2000ZSを用いて、様々なコロイド分散系の粒子サイズとゼータ電位を評価した。数～10nmのミセルやタンパク質分散粒子から数 μm のエマルション分

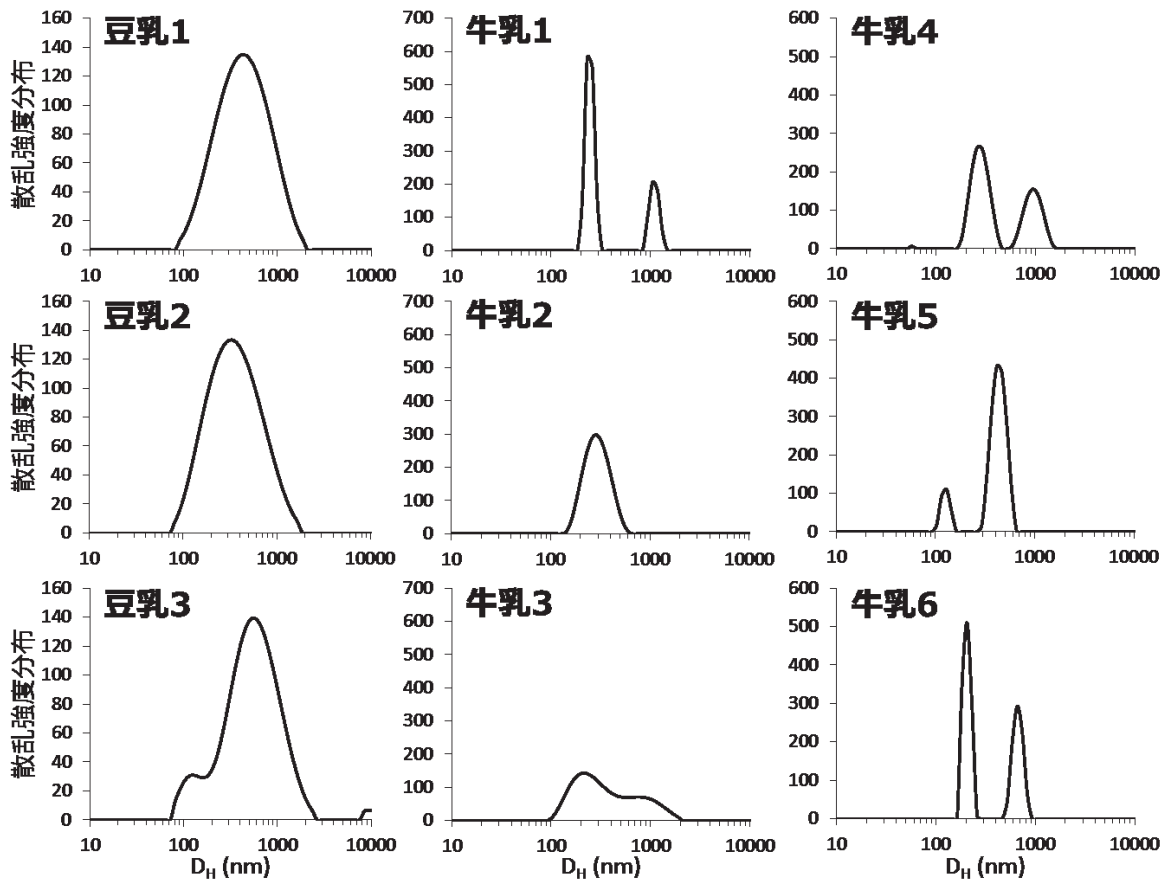


図6. 市販の豆乳3種類(左)と牛乳6種類(中央、右)の粒子サイズ分布曲線
 いずれのサンプルも原液から10倍希釈して測定した。測定の溶媒条件は水とした。

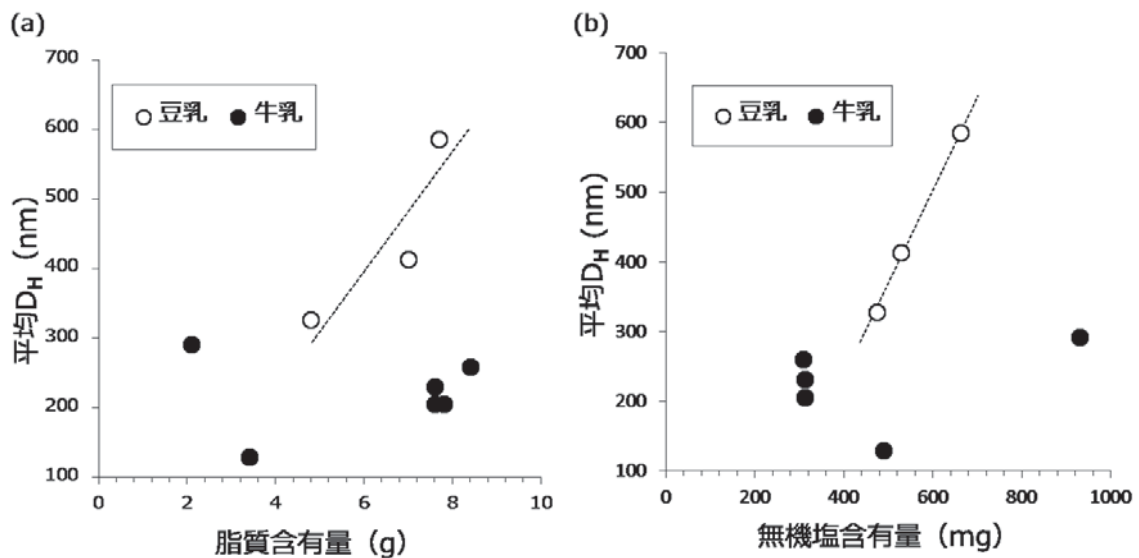


図7. 豆乳と牛乳中に含まれる脂質(左図(a))または全無機塩(右図(b))量と平均粒子サイズ(D_H)の関係
 牛乳サンプルに関しては散乱強度の大きいピーク(主ピーク)の平均D_Hを使用した。脂質および全無機塩
 量(200mLあたり)は製品パッケージから引用。いずれのサンプルも原液から10倍希釈して測定した。測
 定の溶媒条件は水とした。

散滴まで正確かつ迅速に評価できることが分かった。また、温度グラジエント機能を活用することで、実験時間の短縮だけでなく、これまでに看過されてきた新しい実験事実を見出せる可能性がある。

本装置は共通機器であるゆえ、本学所属の研究者には是非ご活用頂きたい。

謝辞

動的光散乱装置ELSZ-2000ZS導入にあたり、ご協力頂きました岩淵紳一郎准教授、福井貴史准教授、ならびに薬学部共通機器委員会の皆様に心から御礼申し上げます。

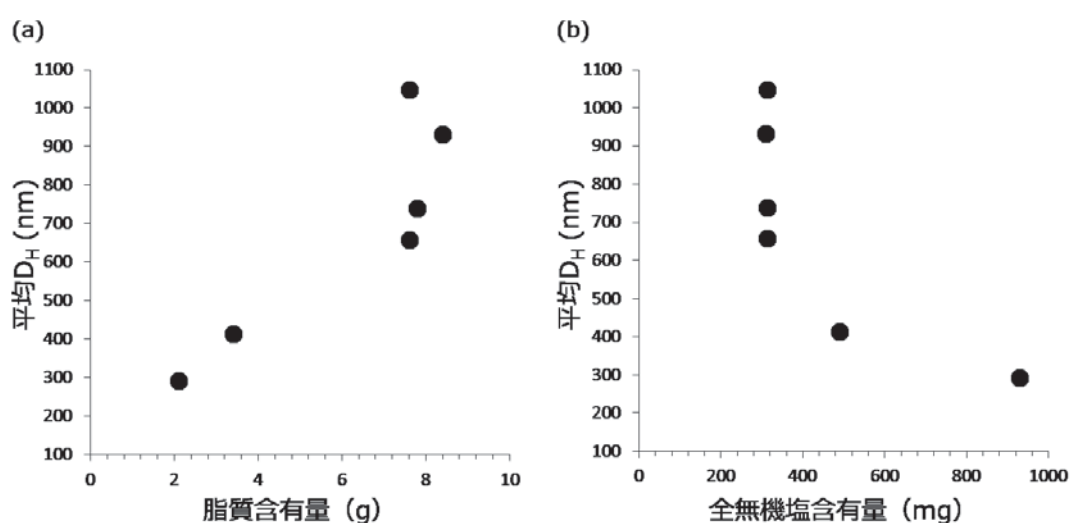


図8. エマルション由来の平均粒子サイズ (D_H) を用いた場合の牛乳中に含まれる脂質 (左図(a)) または全無機塩 (右図(b)) 量と平均 D_H の関係
牛乳サンプルで観察された2つのピーク (図4) のうち D_H の大きいものをエマルション由来の D_H とした。いずれのサンプルも原液から10倍希釈して測定した。測定の溶媒条件は水とした。

表2 2種の豆乳と2種の牛乳のゼータ電位と各サンプル中に含まれる全無機塩量 (200mLあたり)

	豆乳1	豆乳2	牛乳1	牛乳2
ゼータ電位 (mV)	-21.55	-22.14	-21.65	-20.17
全無機塩含有量 (mg)	527.2	474.7	312.0	930.0

参考文献

- 1) 橋本悟ら, ポリグリセリン脂肪酸エステル合成とその疎媒性, *Material Technology* 20 (5), 255-261 (2002)
- 2) Glatter, O. *et al.*, Nonionic micelles near the critical point: micellar growth and attractive interaction. *Langmuir* 16, 8692-8701 (2000).
- 3) Holmberg, K. *et al.*, *Surfactants and Polymers in Aqueous Solution* (2nd edition). John Wiley & Sons, Chichester, p.101 (2003).
- 4) 山下裕司ら, 第64回コロイドおよび界面化学討論会要旨集「超高感度DSCを用いたポリオキシエチレン型非イオン界面活性剤水溶液の会合体構造変化に関する研究」, p.68 (2013).
- 5) Tse-Ve-Koon, K. *et al.*, Structure, thermodynamics and dynamics of the isotropic phase of spherical non-ionic surfactant micelles. *J. Colloid and Interface Sci.* 393, 161-173 (2013).
- 6) Varga, N. *et al.*, Comprehensive study on the structure of the BSA from extended-to-aged form in wide (2-12) pH range. *Int. J. Bio. Macromol.* 88, 51-58 (2016).
- 7) Moriyama, Y. *et al.*, Secondary structural change of bovine serum albumin in thermal denaturation up to 130 °C and protective effect of sodium dodecyl sulfate on the change. *J. Phys Chem. B* 112, 16585-16589 (2008).
- 8) Honda, C. *et al.*, Studies on thermal aggregation of bovine serum albumin as a drug Carrier. *Chem. Pharm. Bull.* 48 (4), 464-466 (2000).
- 9) 山崎忠男ら, ウシ血清アルブミンの溶存状態に及ぼす Tween系界面活性剤の影響. *Material Tech.* 19 (5), 209-214 (2001).
- 10) Borzova, V.A. *et al.*, Kinetics of thermal denaturation and aggregation of bovine serum albumin. *PLoS One* 11 (4), e0153495, doi: 10.1371/journal.pone.0153495. (2016)
- 11) 大塚電子(株)ホームページ測定例「BSAの分子量(4°C)」, <https://www.otsukael.jp/product/detail/productid/92> (2016年9月30日)
- 12) Jr. Peters, T., Serum Albumin. *Advances in Protein Chem.* 37, 161-245 (1985)
- 13) 藤田哲, 食品の乳化, 幸書房, pp.308-310 (2006)

Study on Colloidal Dispersion Systems Using Dynamic Light Scattering

— Application Examples of ELSZ-2000ZS —

Yuji YAMASHITA and Tetsuji HIRAO

Department of Pharmaceutical and Life Sciences, Faculty of Pharmacy, Chiba Institute of Science

“Zeta Potential/Droplet Size/Molecular Weight measuring system ELSZ-2000ZS” was newly placed as a common equipment of the department of pharmacy in Chiba institute of science in 2015. ELSZ-2000ZS is utilized to evaluate the hydrodynamic size and zeta-pontial of the colloidal dispersion with the wide range of droplet size typically from nanometer to micrometer, in addition, equipped to measure the molecular weight of micelle or polymer. This newly developed ELSZ-2000ZS has the temperature gradient function, which would not only help our laborious experimental works, but also lead to discovering unknown phenomena. In this paper, we show three topics of the colloidal dispersion systems evaluated by ELSZ-2000ZS; (1) temperature-dependency of size of the micelle formed by a general nonionic surfactant aqueous solution, (2) droplet size and aggregation of the protein, and (3) droplet size and zeta-potential of the commercial soy-milk and cow-milk. Our present findings suggest that ELSZ-2000ZS is available for the wide size range of colloidal droplets with higher accuracy and can become a promising tool to investigate various colloidal systems.