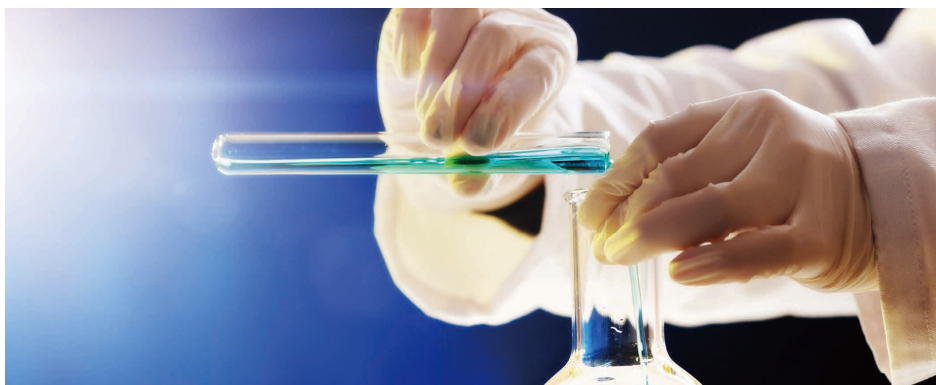


ポリマーコーティングした金ナノ粒子の 膨潤のコントロール

Cary 3500 マルチゾーンペルチェ UV-Vis 分光光度計による
温度およびイオン強度が曇点に与える影響を測定



著者

Ben Tadgell,
Dr. Eser Akinoglu,
Prof. Paul Mulvaney¹
Dr. Matthew Quinn²

¹ARC Centre of Excellence
in Exciton Science, School
of Chemistry, University of
Melbourne, Australia.

²Agilent Technologies,
Inc. Melbourne, Victoria,
Australia

はじめに

ナノ粒子は数十年にわたり、化粧品、電子機器、生物医学アプリケーションなど、非常に多くの技術や工業製品に使用されてきました (1,2)。このような製品に幅広く使用されることから、ナノ粒子の使用を決定づける性質や重要な影響因子を理解することの重要性が上げられます。

金ナノ粒子 (GNP) は、画期的で新しい多数の技術によって広く検討されており、さまざまな研究戦略が提示されています (1-3)。GNP の表面特性や溶液中の安定性はアプリケーションの開発や製造容易性において重要です。そのため、ナノ粒子の安定性のメカニズムやコロイド粒子溶液の研究を促進する技術は、この分野の研究者に注目されています。

本研究では、温度とイオン強度がポリ(N-イソプロピルアクリルアミド) (PNIPAM) でコーティングした金ナノ粒子の膨潤状態に与える影響について検討しました。本資料では金ナノ粒子を AuPNIPAM と表記します。温度とイオン強度が、ポリマーの膨潤状態に影響を与える可能性のある 2 つのパラメータです。膨潤状態によって、PNIPAM ポリマーコーティングによる立体安定性の程度が決まる場合があります。ポリマーは、特定の温度またはイオン強度にあるとき、周りの水分子より他の隣接するポリマー鎖を強く引き付ける（疎水性が高くなる）場合があります。この作用はポリマーの曇点といわれています。曇点に到達または超過すると、ポリマーコーティングが金ナノ粒子に近づき、流体力学半径が小さくなります。その結果、ファンデルワールス (VdW) 力により、隣接粒子との近距離で相互作用や凝集が生じます。

ポリマーコーティングした粒子が凝集すると、入射光が減光します。そのため、UV-Vis 分光光度計を用いてイオン強度や温度の影響における曇点を測定することができます。この測定は、特定の波長で光の透過率（吸光度で測定）をモニタリングすることにより行います。

実験方法

サンプルおよび標準溶液

AuPNIPAM はシード沈殿重合により合成しました。合成は次の 2 つのステップからなります。

- クエン酸還元法による球体状の金ナノ粒子の合成 (3)。
- ナノ粒子表面上の PNIPAM/架橋剤シェルのシード成長によるコアシェル粒子の形成 (4)。

各ステップの方法の詳細は、前述の参考資料にそれぞれ記載されています。

ポリマーは架橋剤モノマーである 15 % N,N'-メチレンビスアクリルアミドで合成しました。脱膨潤時の内径は約 220 nm で、膨潤時の内径は約 340 nm (3, 4) です。

原液の濃度は 0.05 %m/v とし、Milli-Q でろ過した水で既知質量の乾燥粒子を希釈することにより調製後、合成および精製しました。また、特に記載がない限り、バックグラウンドの塩化カリウム (KCl) 濃度は 0.100 M としました。

装置構成

Cary 3500 マルチゾーンペルチェ UV-Vis 分光光度計を本研究に用いました。この分光光度計は、サンプルの温度を正確にコントロールし測定する独自の機能を備えています。Cary 3500 には、サンプルの温度をきわめて正確にモニタリングしながら昇温する機能があります。装置の光線の横に設置するサンプル溶液内に、薄くて柔軟性のある温度プローブを挿入することが可能です。光線を用いて、各時点におけるサンプルの減光

(吸光度で記録) を測定します。サンプルの設定温度が、測定するサンプル部分の温度と一致するように、温度プローブの位置を調節します。温度プローブの温度精度は ± 0.25 °C であり、収集したデータに非常に高い信頼性を示します。

Cary 3500 は 7 つのサンプルを同時に測定でき、同一条件下で同時に複数のパラメータを検討することができます。Cary 3500 では、複数の温度ゾーン (マルチゾーン) を設定できます。この機能を使用することで、異なる設定温度で 4 つの実験を同時に実施することが可能です。

曇点のモニタリングに使用する波長の特定

サンプルの減光の変化をモニタリングするうえで最適な波長を求めるために、10 種類の異なる温度で波長範囲全体でサンプルの吸光度を測定しました。表 1 に示した設定を用いました。2.5 mL の AuPNIPAM を 3.5 mL の石英製キュベットに移し、温度プローブをキュベットに入れました。

表 1. 分析条件

パラメータ	設定
波長範囲 (nm)	1000~200
スペクトルバンド幅 (nm)	2
シグナル平均化時間 (s)	0.02
データ間隔 (nm)	1
攪拌速度 (rpm)	なし
温度 (°C)	30、31、32、34、35、36、37、38、39 および 50

温度によって生じる AuPNIPAM の曇点の特定

温度変化によって生じる曇点を求めるために、2.5 mL の AuPNIPAM を 3.5 mL の石英製キュベットに移し、温度プローブをキュベットに入れました。表 2 に示した分析条件を用いて、サンプルの温度を 25 ~ 45 °C に上昇させて、450 nm でサンプルの吸光度を測定しました。

表 2. 分析条件

パラメータ	設定
波長 (nm)	450
スペクトルバンド幅 (nm)	2
シグナル平均化時間 (s)	0.02
データ間隔 (nm)	1
開始温度 (°C)	25
終了温度 (°C)	45
温度範囲 (°C)	0.2
昇温速度 (°C/min)	1
攪拌速度 (rpm)	500

イオン強度が曇点に与える影響

イオン強度によって生じる曇点を求めるために、濃度 0.0000、0.0100、0.0500、0.0020、0.0274 および 0.1000 M の KCl で 0.0500 (%m/m) の AuPNIPAM 溶液を 6 つ調製しました。

サンプル溶液を入れているキュベット内に温度プローブを挿入しました。表 3 に示した分析条件を用いて、サンプルの温度を 25 ~ 45 °C に上昇させて、450 nm でサンプルの吸光度を測定しました。

表 3. 分析条件

パラメータ	設定
波長 (nm)	450
スペクトルバンド幅 (nm)	2
シグナル平均化時間 (s)	0.02
データ間隔 (nm)	1
開始温度 (°C)	25
終了温度 (°C)	45
温度範囲 (°C)	0.2
昇温速度 (°C/min)	1
攪拌速度 (rpm)	500

結果と考察

ナノ粒子膨潤に与える温度の影響

曇点を求めるための最適な波長は、静的温度で昇温させた AuPNIPAM 粒子の波長スキャンを実行することにより特定しました (図 1)。スキャンは 1000 ~ 200 nm で実施し、温度変化による膨潤状態の変化が明らかになりました (図1)。Agilent Cary UV ワークステーションソフトウェアで収集したデータから求めた吸光度をプロットしました。

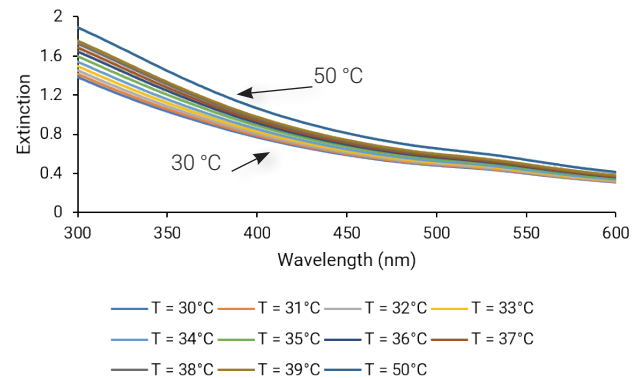


図 1. 昇温条件における AuPNIPAM 溶液の波長スキャン。温度とともに上昇する吸光度シグナルは、ポリマーコーティングが脱膨潤したことを示しています。わかりやすくするために 300 ~ 600 nm のみ示しています。

図 1 より、AuPNIPAM サンプルは温度が上昇するにつれ吸光度が上昇していることがわかります。AuPNIPAM 溶液に塩類 (KCl) がいないため、イオン強度の影響が除かれ、変数は温度変化のみとなります。0 M KCl では、ナノ粒子の凝集は起こりません。吸光度の増加は、温度によって誘導される脱膨潤のみによるものです。ナノ粒子が脱膨潤することで、密度が上がります。光の散乱の度合いが大きくなります。

温度によって生じる AuPNIPAM の曇点の特定

図 1 で示したスキャンから、この実験で用いる最適な波長として 450 nm を選択しました。単一波長を観察することにより、明らかなシグナルを用いて温度条件の変化への反応を観察し、減光の変化を容易に特定できます (図 2)。

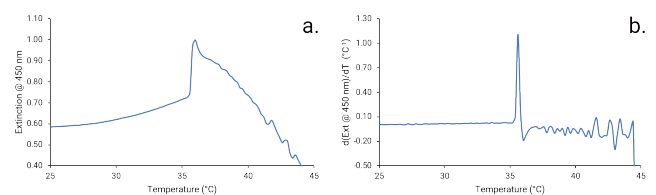


図 2. (a.) 0.1000 M KCl 溶液中の 0.0500 % AuPNIPAM の温度スペクトル (b.) 対応する一次導関数プロット

温度に反応する AuPNIPAM ナノ粒子の膨潤および凝集の特性解析のために、450 nm でモニタリングした吸光度でサンプル温度を上昇させました。温度を 30 から 35 °C に上げると、可視光の散乱度合いに正比例する体積相転移が起きたために、ポリマーは脱膨潤しました。

図 1 では吸光度の読み取り値が緩やかな減少を示しており、これは AuPNIPAM ナノ粒子の高密度化により、光散乱が大きくなることによって生じたものです。一次導関数プロット (図 2) で示した 35.7 °C における劇的な変化は、ナノ粒子の凝集を示しています。光学設計と、サンプルに非常に近い Cary 3500 検出器で、ナノ粒子により散乱した光の大部分を測定できます。散乱光を多く集めることにより S/N 比を向上させ、正確な測定が可能になります。

イオン強度が曇点に与える影響

異なるイオン強度で、サンプルの温度を緩やかに上げて、サンプルの吸光度を測定することにより、塩濃度がナノ粒子の膨潤に与える影響を検討しました (図 3)。Cary 3500 は複数のサンプルを同時に測定できるため、異なるイオン強度の 7 種類のサンプルを (サンプルを移動させず) 同時に分析できます。この同時測定の機能により、各サンプルを順次測定する場合と比べて、大幅な時間短縮が可能になり、データポイントの欠損がなくなります。

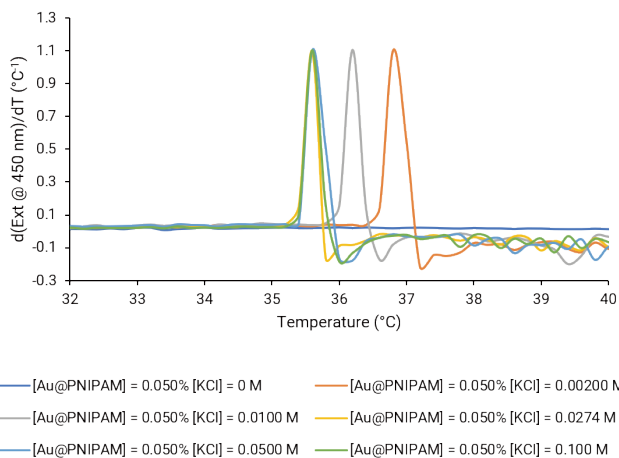


図 3. 異なる塩 (KCl) 濃度で昇温した AuPNIPAM サンプルの一次導関数

導関数における温度のグラジエントカーブのピークから、粒子の凝集の開始を特定することができます。0 M KCl では凝集が観察されませんでした (図 3 の濃青ライン)。0.002 M の塩濃度 (図 3 のオレンジライン) では、36.8 °C で粒子の凝集が観察されます。塩濃度が上がるにつれてより低い温度で凝集を観察することができます (図 3)。0.027 M 以上の塩濃度では、35.7 °C でも凝集が開始されています。

凝集点異なるイオン強度で熱誘導されることを理解したことで、塩類と温度の膨潤状態に対する影響や、ナノ粒子の安定性をさらに検討できました (図 4)。

イオン強度の影響は図 4a で認められ、粒子の密度が高くなることにより、減光が増えます。これは図 1 で示したデータを裏付けています。特定の温度範囲で異なる塩濃度溶液の吸光度を測定しました。用いた温度範囲は凝集点以下でした。続いて、塩および温度で誘導される脱膨潤の影響についてモニタリングし、線形モデルを示しました。

さらに、塩濃度を上げると、脱膨潤の程度は 2 つの明らかな傾向を示しました。0.03 M 未満の KCl では塩濃度が濃くなるにつれ、粒子は脱膨潤します。0.03 M を超える KCl では塩濃度が濃くなるにつれ、粒子は膨潤します (図 4b)。

塩濃度が低い場合は、塩をさらに添加することによりポリマーから水分子の脱離が引き起こされる可能性があります。水分子の脱離は、バルク溶液のイオン強度を維持することが目的であり、粒子の脱膨潤や光散乱の増加を引き起こす可能性があります。高い塩濃度では、KCl が増えることにより水の水素結合ネットワークが破壊されます。この破壊によって、ポリマーと水素結合する水分子にとって熱力学的に好ましい状況が生じます。これがポリマーの膨潤と光散乱の低下につながります。

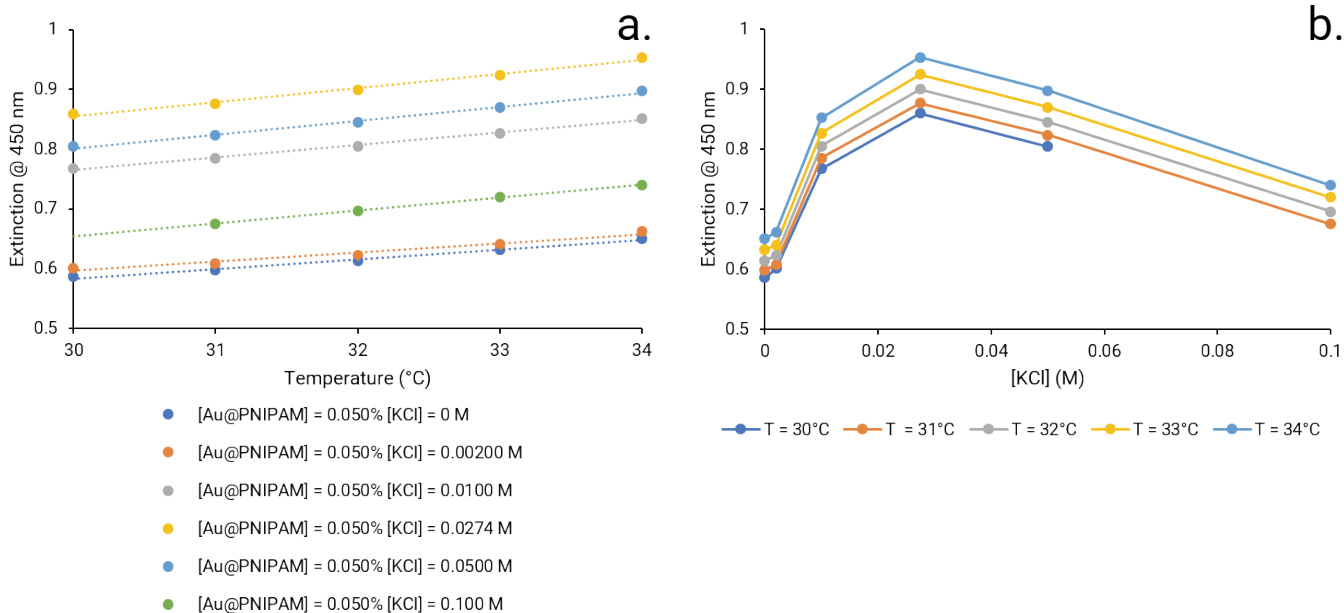


図 4. (a) 塩濃度の関数として温度範囲を誘導するサブ凝集における 450 nm での吸光度。温度と高い直線性が得られました。(b) 塩濃度、温度、450 nm での吸光度の関係は、塩濃度が 0 から 0.03 M になるとナノ粒子が脱膨潤することを示しています。塩濃度が 0.03 M を超えると、ナノ粒子の膨潤が起こり、光散乱の低下 (吸光度の低下) につながります。

結論

温度やイオンで誘導された Au@PNIPAM ナノ粒子の膨潤について検討し、Cary 3500 マルチゾーンペルチェ UV-Vis 分光光度計を用いて測定しました。温度やイオン強度の変化によって、ナノ粒子のポリマーコーティングの脱膨潤が生じ、これによりコーティングが各粒子の表面近くにとどまります。この脱膨潤により光散乱が増加し、吸光度の増加として測定されます。

ナノ粒子が 0 M KCl 溶液中に存在する場合、膨潤状態は温度により変化しますが、今回の条件下では粒子は凝集しませんでした。しかし、塩濃度が 0.02 M 以上になると、ナノ粒子の凝集が 36.8 °C から誘導されました。この凝集は、サンプルの温度を上げながら 450 nm の吸光度を測定することによって観察されました。また、イオン強度の違いを検討し、曇点を測定することで、温度とイオン強度がポリマーコーティングした金ナノ粒子の膨潤状態に与える影響について明らかにしました。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っていません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2019
Printed in Japan, May 1, 2019
5994-0952JAJP

参考文献

1. Elahi N., Kamali M., Hadi Baghersad M., Recent biomedical applications of gold nanoparticles: A review, *Talanta*, **2018**, Volume 184 1, 537-556.
2. Khezri K., Saeedi M., Maleki Dizaj S., Application of nanoparticles in percutaneous delivery of active ingredients in cosmetic preparations, *Biomedicine & Pharmacotherapy* **2018**, Volume 106, 1499-1505.
3. Turkevich J., Cooper Stevenson P., Hillier J., A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold, *Discuss. Faraday Soc.*, **1951**, 11, 55-75.
4. Dulle, M.; Jaber, S.; Rosenfeldt, S.; Radulescu, A.; Foerster, S.; Mulvaney, P.; Karg, M. Gold-poly (N-isopropylacrylamide) core-shell colloids with homogeneous density profiles: A small angle scattering study, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2014**, 17 (2), 1354-1367.