

NEXAFS 法による金属ナノ粒子表面上に吸着した有機分子の化学状態分析

Chemical states analysis for organic molecule adsorbed on metal nanoparticle by means of NEXAFS measurement

塚田 千恵^a, 小川 智史^a, 山中 恵介^b, 太田 俊明^b, 吉田 朋子^{a,c}, 八木 伸也^{a,c}
Chie Tsukada^a, Satoshi Ogawa^a, Keisuke Yamana^b, Toshiaki Ohta^b, Tomoko Yoshida^{a,c}, Shinya Yagi^{a,c}

^a名古屋大学大学院工学研究科, ^b立命館大学 SR センター, ^c名古屋大学エコトピア科学研究所
^aGraduate School of Engineering, Nagoya University, ^bThe SR Center, Ritsumeikan University,
^cEcoTopia Science Institute, Nagoya University

液中プラズマ法で作製した Au ナノ粒子 (Au NPs) へのフォスファチジルコリン (PC) 分子の吸着反応に寄与する官能基を明らかにするために、Au NPs または Au 板表面に吸着した PC 分子に対して N 及び O-K 吸収端 NEXAFS 測定を行った。Au NPs との反応では吸着に寄与していない PC 分子が多く存在するため反応前後でスペクトルの変化がほとんど見られなかった。しかしながら Au 板表面では反応後にピーク強度の減少が顕著に見られ、PC 分子は親水基で Au 表面に吸着することが示唆された。

To reveal the functional groups contributed for the adsorption reaction of phosphatidylcholine (PC) on Au nanoparticles (Au NPs), N and O K-edges NEXAFS measurements have been carried out for PC adsorbed on Au NPs or Au sheet. The spectra for before/after PC adsorption reaction on Au NPs do not almost change. On the other hand, the peak intensity for Au sheet decreases significantly compared with that before adsorption reaction. This result implies that the spectrum change depends upon the amount of the contribution of PC for the adsorption reaction. It is thought that the PC adsorbs at the part of hydrophilic group on Au surface.

Keywords: phosphatidylcholine (PC), Au materials, adsorption reaction, N and O K-edges NEXAFS

背景と研究目的: 金ナノ粒子 (Au NPs) は医療分野でドラッグデリバリーシステム[1]などへの応用に期待されている。しかしながら NPs は生体分子との吸着反応活性が高いため、生体に対する安全性の評価が必要である。そこで我々は生体環境を模した in-vitro 条件で Au NPs と生体分子の吸着反応を促し、NPs 表面への吸着に寄与する分子の官能基、及び反応後に生じる NPs の形状変化について解明したいと考えた。生体は約 70% が水で構成されるため、吸着反応は水環境下で促すことを条件とし、また、反応分子は生体細胞膜を成す主なリン脂質のフォスファチジルコリン (PC) を選んだ。PC 分子は大別して親水基と疎水基の 2 つの部分から成っており、その親水基は水素と炭素以外に窒素 (N)、酸素 (O) そしてリン (P) で構成される。PC 分子は親水基または疎水基同士で結合し凝集体を形成しやすいため、本報告では、Au NPs と PC 分子を反応させた場合の結果に加え、Au 板と PC 分子の反応の結果についても記述する。それは、反応後に板表面を milli-Q 水でリンスす

ることで化学吸着した分子のみを残すことが容易に可能であると考えたためである。よって本研究の目的は、吸着反応前後の N-及び O-K 吸収端近傍 X 線吸収微細構造 (NEXAFS) スペクトルの変化から、PC 分子の Au NPs への吸着に寄与する官能基を明らかにすることである。

実験: 以下に 2 種類の試料及び標準試料の作製方法、そして測定の詳細について記す。

(1) Au NPs と PC 分子の吸着反応

Au NPs コロイド水溶液は液中プラズマ法 [2,3] を使い、NaCl 水溶液中で 2 本の Au ロッド間にグロー放電を起こし作製した。続いて PC 粉末を milli-Q 水に溶かし、遠心分離にて凝集体を沈殿させた。その上澄み液を Au NPs コロイド水溶液中に滴下し、吸着反応を促した。未反応の PC 分子を除去するため、反応により生じた沈殿物を別の容器に取り出して milli-Q 水を加えた後、再び生じた沈殿物の上澄み液を取り除き milli-Q 水を加える、というリンス

の作業を数回行った。沈殿物はIn板に滴下し、自然乾燥させた。この試料をPC/Au NPsと記す。

(2) Au板とPC分子の吸着反応

Au板をPC水溶液中に浸して吸着反応を促した後、板表面をmilli-Q水でリンスして化学吸着した分子のみを残した。この試料をPC/Au sheetと記す。

標準試料であるAuと未反応のPC分子は、PC水溶液をAu板表面に滴下し自然乾燥させて作製した。この試料をPC multilayerと記す。またFePO₄粉末はIn板に擦りつけ、O-K吸収端NEXAFSの標準試料として測定した。

N-及びO-K吸収端NEXAFS測定は、立命館大学SRセンターBL-2で実施した。測定は全電子収量法 (TEY) で行った。入射光エネルギーは、h-BN粉末のN-K吸収端及び α -Fe₂O₃粉末のO-K吸収端NEXAFSスペクトルの第一ピークをそれぞれ399.1 eVと529.4 eVにすることで校正した。

結果、および、考察：

Fig.1、2にPC/Au NPs及びPC/Au sheetのN-K吸収端NEXAFS測定の結果をそれぞれ赤色で示す。PC/Au NPsのデータはIn板のスペクトルを差し引いた後を示している(PC/Au NPs - In sheetと記す)。また、青色で標準試料のPC multilayerのスペクトルも示す。PC multilayer、PC/Au NPs、PC/Au sheetの全てのスペクトルで403.6 eVにピークが見られるが、PC分子はN-CH₃の結合を有するため、このピークはN-CH₃の $\sigma^*(\text{N-C})$ に由来するといえる。PC/Au NPs - In sheetとPC multilayerのスペクトルを比較すると、394~410 eVで同じ形状を示した。ここには示さないが、NEXAFS測定を行った試料と同じ沈殿物に対して透過型電子顕微鏡による観察を行ったところ、リポソームの凝集体と考えられる像が得られ、かつAu NPsが吸着していない箇所(全てのリポソーム表面がAu NPsの吸着で覆われていない状態)が多く見られた。したがってAu NPsと未反応のPC分子が多く存在しているため、PC/Au NPs - In sheetのスペクトルはPC multilayerと比べて変化が見られなかったと考えられる。一方で、PC/Au sheetはPC multilayerと比較して403.6 eVのピーク強度が減少している。これはPC分子がAu板表面にN-CH₃のメチル基で吸着し、Au板から $\sigma^*(\text{N-C})$ に電子が流入したことや、N-C結

合が解離したために生じたと考えられる。

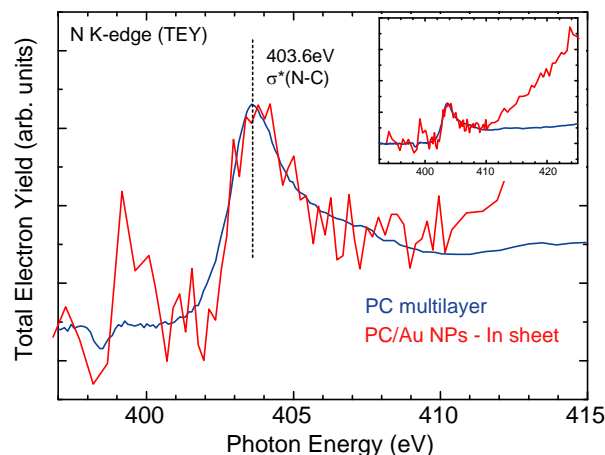


Fig.1. N K-edge NEXAFS spectra for PC/Au NPs - In sheet and PC multilayer.

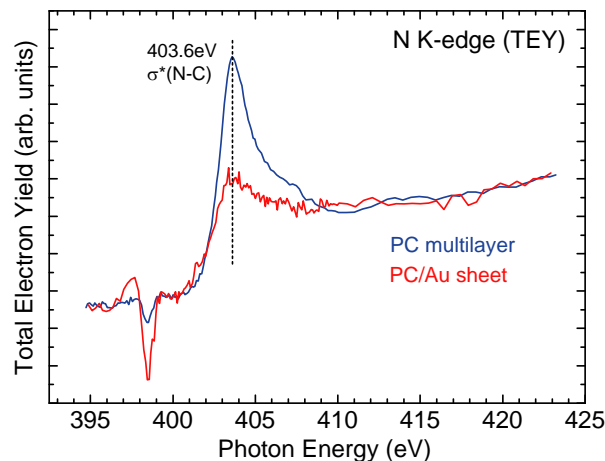


Fig.2. N K-edge NEXAFS spectra for PC/Au sheet and PC multilayer.

Fig.3にPC/Au NPs - In sheet、PC/Au sheet、PC multilayerおよびFePO₄粉末のO-K吸収端NEXAFS測定の結果を示す。PC分子はO-C及びO-Pの結合をもつ。岡島らはPC分子ではないが、有機分子について、Fig.3に示す位置にO=CやO-C結合に関する π^* 及び σ^* のピークや肩構造が見られると報告しており[4]、これらの位置は本研究で得られたスペクトルの位置とも一致した。また、O=P及びO-P結合をもつFePO₄粉末のスペクトルにも π^* や σ^* に起因するピークや肩構造が確認され、それらの位置についても近いピーク位置に同様の結果が得られた。PC/Au NPs - In sheetとPC/Au sheetのスペクトルについて、PC multilayerのそれと比較してそれぞれピーク強度が減少しているため、上記の結合の酸素原子にてAu NPsやAu板表面に吸着していると考えられる。特に、PC multilayerに見られ

た 531.5 eV の π^* の鋭いピークの強度が減少し、かつ 545 eV 付近の肩構造が PC/Au NPs - In sheet や PC/Au sheet では消失していたことから、PC 分子は O=C や O=P の酸素で結合し、それら二重結合が解離したと推測される。この結果は、あいちシンクロトロン光センターや広島大学放射光科学研究センターで実施したリン K 吸収端 NEXAFS 測定の結果から得られた吸着モデルとも一致する。以上の結果から、PC 分子は親水基部の全体で Au 表面に吸着していると考えられる。

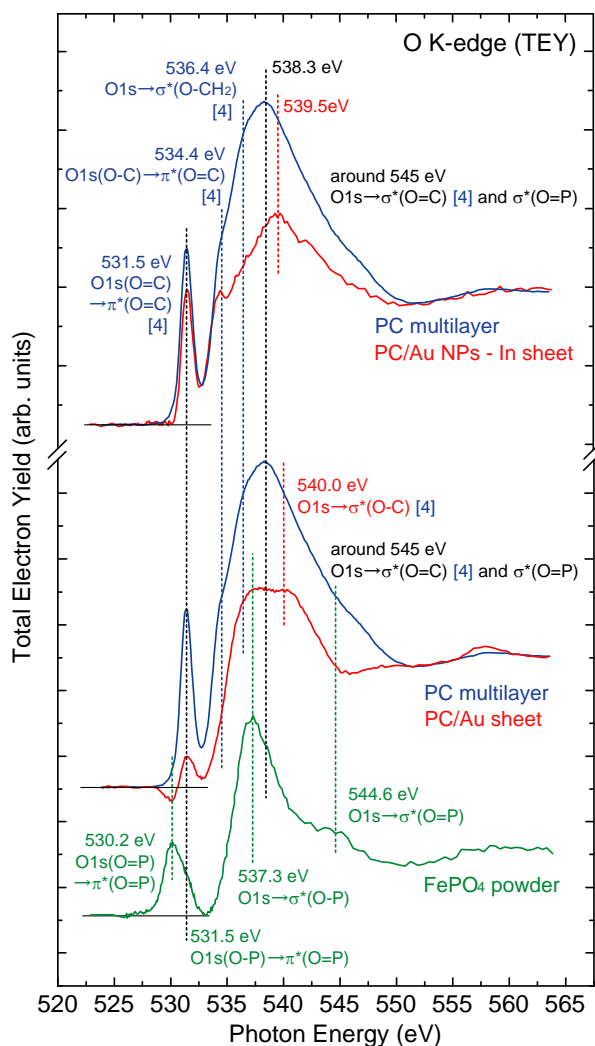


Fig.3. O K-edge NEXAFS spectra for PC/Au NPs - In sheet, PC/Au sheet, PC multilayer and FePO₄ powder, respectively.

文 献

- [1] F. Wang, Y.-C. Wang, S. Dou, M.-H. Xiong, T.-M. Sun and J. Wang, *J. Am. Chem. Soc.* **5** (2011) 3679.
- [2] H. Nameki, *private communication in Aichi Prefectural Technical Report* (2010).
- [3] T. Mizutani, Y. Abe, H. Hamaguchi, H.

Nameki and S. Yagi, *Thomson Reuters database* (2012).

[4] T. Okajima, K. Hara, M. Yamamoto, K. Seki, *BUNSEKI KAGAKU* **59** (2010) 477.

論文・学会等発表

[1] C. Tsukada, T. Tsuji, K. Matsuo, G. Kutluk, H. Nameki, T. Yoshida, S. Yagi, The 4th International Symposium on Surface and Interface of Biomaterials : ISSIB2013 (口頭発表)

[2] 塚田千恵、松尾光一、野本豊和、アーリップ・クトゥルク、沢田正博、生天目博文、谷口雅樹、吉田朋子、八木伸也、第 27 回日本放射光学会年会・放射光科学合同シンポジウム (ポスター発表)