

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 26 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K04604

研究課題名(和文) ナノ・メゾスケールの界面水の動態から観る高分子材料の生体適合性

研究課題名(英文) Biocompatibility of polymeric materials revealed by the structure of interfacial water in the nano- and meso-scale area.

研究代表者

源明 誠 (Gemmei, Makoto)

富山大学・大学院理工学研究部(工学)・准教授

研究者番号：70334711

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：固液界面のナノ・メゾスケール領域の水の構造を評価するために、近赤外領域における温度可変全反射分光装置を構築し、界面100から900 nm領域の分光測定を可能にした。水の全反射近赤外スペクトルは、およそ300 nm以下の領域で水の密度の上昇を示唆する変化を示した。また、同領域のスペクトル成分分析から、バルク水と比較して、界面では4つの水素結合を有した水分子が相対的に多く存在し、それと同時に、単分子(水素結合をしていない水分子)も多く存在していることが明らかとなった。さらに温度摂動に対しては、バルク水と比較して、水素結合構造が破壊されにくいことも判明した。

研究成果の概要(英文)：Attenuated total reflectance (ATR) near infrared (NIR) spectroscopy, which has the ability to observe the water-solid interface (100-900 nm) selectively, was constructed. ATR-NIR spectra of water on silicon and sapphire surfaces showed that a density of water at below 300 nm from the interface is higher than that of bulk water. The spectral decomposition of combination band of OH symmetric stretching and OH antisymmetric stretching indicated that fully-hydrogen-bonded water molecules and no-hydrogen-bonded water molecules are much higher than those of bulk water. Furthermore, temperature-dependence of the ATR-NIR spectra of water showed that the hydrogen bonding between water molecules is stable (strong) in comparison with bulk water.

研究分野：化学

キーワード：界面 振動分光法 水

1. 研究開始当初の背景

材料の生体適合性は、生体埋植材料やバイオセンシング素子などに要求される最も基本的な特性である。血液と接触する材料は、血液成分の接着は許されず、バイオセンシング素子では、バイオマーカー以外の夾雑物の吸着を回避しなければならない。「接着・吸着の回避」とあるように、生体適合性の発現機序に関する議論は、材料界面の科学にフォーカスされる。

最近では、生体適合性を有する材料中あるいは界面の水の動態に基づき、その発現機序の解明が試みられている。前者は、界面選択的な評価法が限られていることから、材料中の水の評価し、界面の動態を類推する試みである。主に示差走査熱量測定法(DSC)が用いられ、生体適合性に優れた材料では、-100°Cでも凍らない水が少ないとする報告や、-100°Cへの冷却後の昇温で結晶化する「再結晶化水」が生体適合性の駆動力である、などの提案がある。

申請者は、DSCに基づく提案を検証するため新たに構築した温度可変赤外分光装置で、高分子膜・水溶液中の水の相転移について調査し、生体適合性のないポリスチレン等の汎用材料中においても再結晶化水が存在すること、再結晶化する水は、特定の水和構造を有していないことを見出した。これらの研究は、高分子膜・水溶液中の水の動態からは、生体適合性の発現機序の直接的な結論を得ることは難しく、特に熱損動を伴う評価法では、生体温度における水と高分子との相互作用形態を解明できないことを明らかにした。

一方、近年の振動分光法の発展により、界面の選択的な評価が可能で、和周波発生(SFG)法や表面増強赤外吸収分光法が開発され、固体界面の水にも適用されている。申請者は、種々の高分子膜、高分子ブラシ、自己組織化単分子膜の界面水をSFG法により評価し、生体適合材料では水に由来するSFGシグナルが小さいことを見出した。これらの研究から、生体適合材料の界面では、水分子の配向は強くなく水和圏が極めて小さい、との解釈に至った。

ところが最近、分子動力学(MD)法に基づく界面水のSFGスペクトルの解釈に依れば、SFGシグナルの強度は、界面の水分子1層のみで説明できる、とする幾つかの報告がなされた。これらの研究は、申請者のSFG法に基づく「水和圏の大きさ=生体適合性の有無」とする解釈の再検証が必要であることを示している。MDの報告は、「SFGシグナル強度-界面の水分子の吸着層の厚み」ではないことを意味するからである。

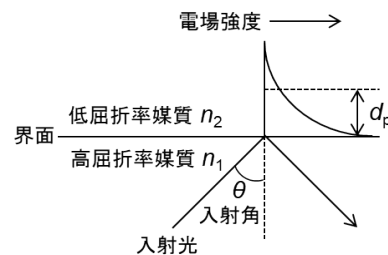
2. 研究の目的

高分子-水界面における水の動態をナノ・メゾスケール領域(数百ナノメートル領域)をターゲットに、高分子材料の生体適合

性と界面水の動態との相関を明らかにする。本研究は、1990年代のナノテクノロジーによる材料開発を通して2000年代のナノ・メゾスケールの構造制御の優位性が見出されたと同様に、固-液メゾスケール界面における媒質の実像を明らかにすることで、界面現象の新たな見地を得ようとする研究の第一歩と位置づけられる。

3. 研究の方法

全反射分光(ATR)法は、高屈折率媒質と低屈折率媒質の界面で、高屈折率媒質側から光を入射し全反射する際に低屈折率側に生じるエバネッセント波を検出光として用いる分光法の一つである。



このときのエバネッセント波の電場強度 E は次式で与えられる。

$$E = E_0 \exp((-2\pi n_2 / \lambda)(\sin^2 \theta - (n_2/n_1)^2)^{1/2} Z)$$

E_0 は表面の電場強度、 Z は表面からの距離、 λ は入射光の波長、 θ は入射角、 n_1 および n_2 は高屈折率および低屈折率媒質の屈折率である。上式は ATR 法で適切な屈折率を有する ATR 結晶を用いることにより、固体表面のメゾスケールの分光が可能であることを示している。 E/E_0 が 0.1 となる距離は、次式で与えられ、これを分光深さ(もぐりこみ深さ、 d_p')とした。

$$d_p' = \frac{2.27 \lambda / n_1}{2\pi \sqrt{\sin^2 \theta - (n_2/n_1)^2}}$$

ATR 結晶にシリコン(Si)およびサファイア(Al_2O_3)を用い、界面に接する媒質を水としたときの分光深さ(もぐりこみ深さ)は、図1に示すように、入射角を変えることで、Siでは100-400 nm、 Al_2O_3 では500-900 nmの界面域を分光可能である。

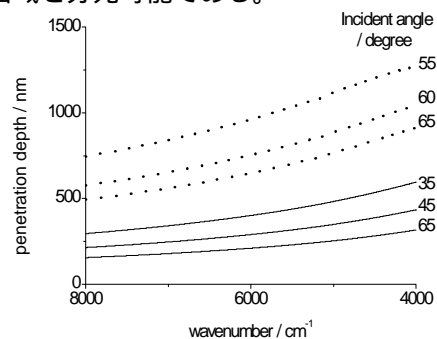


図1. 水を媒質としたときの分光深さ(もぐりこみ深さ) ATR 結晶 (実線: シリコン, 破線: サファイア)

水 - 固体（シリコンまたはサファイア）界面の水の分光スペクトルを得るために、図 2 に示す温度可変全反射近赤外分光ユニットを設計・構築した。

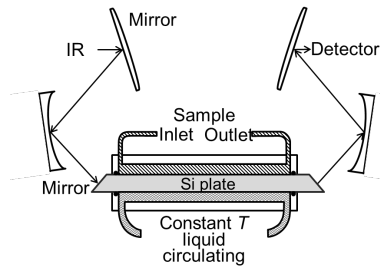


図 2 . 温度可変近赤外分光ユニット

4 . 研究成果

4 . 1 . 親水表面の水構造

シリコン基板とサファイア基板はどちらも表面に OH 基を有することから、これらの基板を ATR 結晶として用いることで、親水表面の 100 nm から 900 nm の領域を、分別的に分光可能である。種々の入射角で測定した 25 °C における SiOH 表面および AlOH 表面近傍の水の ATR-NIR スペクトルを図 1 に示す。スペクトルには $\sim 6890 \text{ cm}^{-1}$ と $\sim 5150 \text{ cm}^{-1}$ を極大とする幅広い吸収バンドが観測された。 $\sim 6890 \text{ cm}^{-1}$ の吸収バンドは、水の ν_1 と ν_3 の結合音 ($\nu_1+\nu_3$)、 $\sim 5150 \text{ cm}^{-1}$ の吸収バンドは ν_2 と ν_3 の結合音 ($\nu_2+\nu_3$) に帰属される。 ν_1 、 ν_2 、 ν_3 は、水分子の OH 対称伸縮振動、HOH 変角振動、OH 逆対称伸縮振動である。

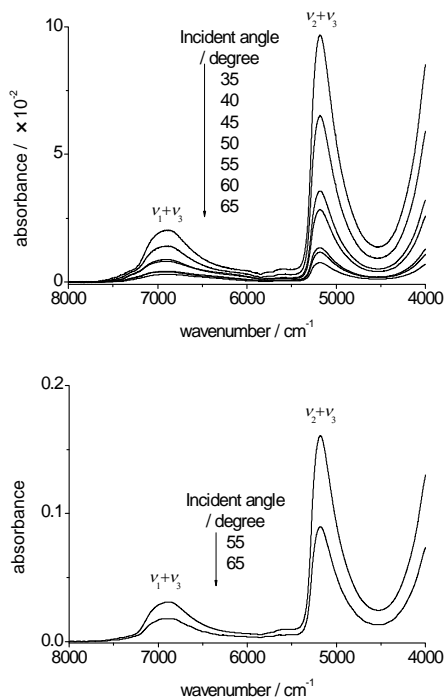


図 3 . 種々の入射角における水の ATR-NIR スペクトル (上) ATR 結晶 : Si , (下) ATR 結晶 : Al_2O_3

振動スペクトルの波形の違いは、物質の状態が異なることを示しているが、図 1 に示すスペクトルの外観に大きな違いは見られな

かった。図 2 に、 $\nu_2+\nu_3$ バンド ($5500 - 4500 \text{ cm}^{-1}$) の吸収強度を基準に $\nu_1+\nu_3$ バンド ($7690 - 5850 \text{ cm}^{-1}$) の相対強度と、ATR 結晶と水の屈折率および入射角から算出される、もぐりこみ深さとの関係を示した。

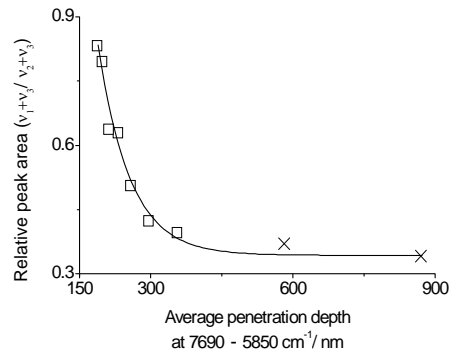


図 4 . 種々の入射角における水の ATR-NIR スペクトル (上) ATR 結晶 : Si , (下) ATR 結晶 : Al_2O_3

$\nu_1+\nu_3$ バンドの相対強度は、界面 300 nm 以上では一定の値を示し、界面 300 nm 以下で急上昇した。このことは、少なくとも界面 300 nm 以下に存在する水はバルク水とは異なる水素結合ネットワーク構造を形成していることを示している。相対強度の増加は、界面近傍の水の密度の増加を仮定すると説明可能であるが、明確な解釈は現在検討中である。

$\nu_1+\nu_3$ バンドは極めて広いバンド幅を有しているが、これは水素結合の有無および水素結合数の異なる水分子の存在を意味している。そこで当該バンドの成分分離を行い (図 3) もぐりこみ深さ、すなわち界面からの距離の関数として、水構造 (水素結合数の異なる水の割合) を評価した。

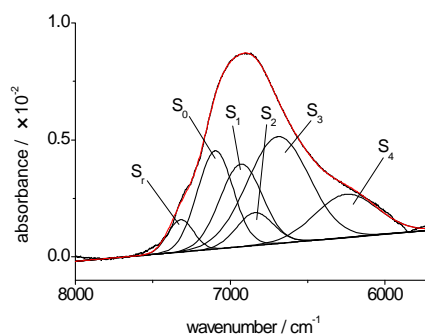


図 5 . 水の ATR-NIR スペクトルの成分分離

図中の S_0 、 S_1 、 S_2 、 S_3 および S_4 は、それぞれ、 $\nu_1+\nu_2+\nu$ (ν : rotational mode)、水素結合数が 0 から 4 の水分子に帰属されるスペクトル成分である。各成分のもぐりこみ深さによる変化は、 S_1 は減少、 S_2 は緩やかに減少、 S_3 は緩やかに増加した。一方、 S_0 および S_4 は他の成分とは異なり、界面 300 nm 以下で増加した。このことは、界面近傍では、水素結合数 4 の水分子が多く存在しており、さらに、水素結合数 0 の水分子も多く存在していることを示している。

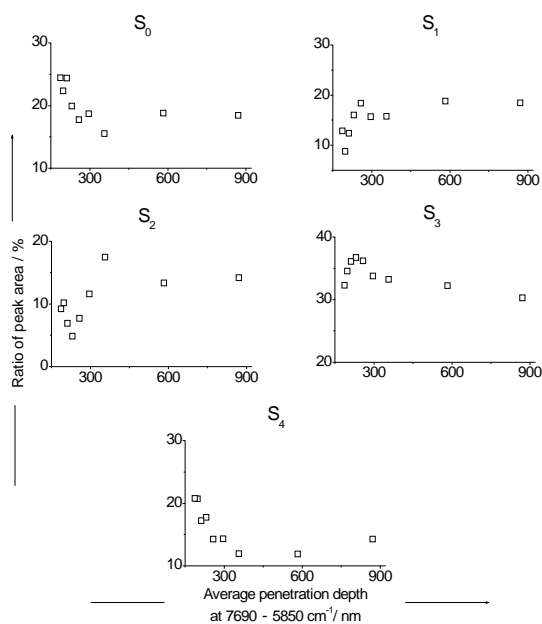


図6．種室温における S_0 - S_4 の潜り込み深さ依存性

4.2. 表界面水の温度依存性

温度可変近赤外分光装置を用いて、5 - 45 °C における表界面水の構造評価を行った。もぐりこみ深さ 356 nm (Δ), 257 nm (\times) および 187 nm (\square) における上述の S_0 - S_4 の成分比の温度依存性を図7に示した。

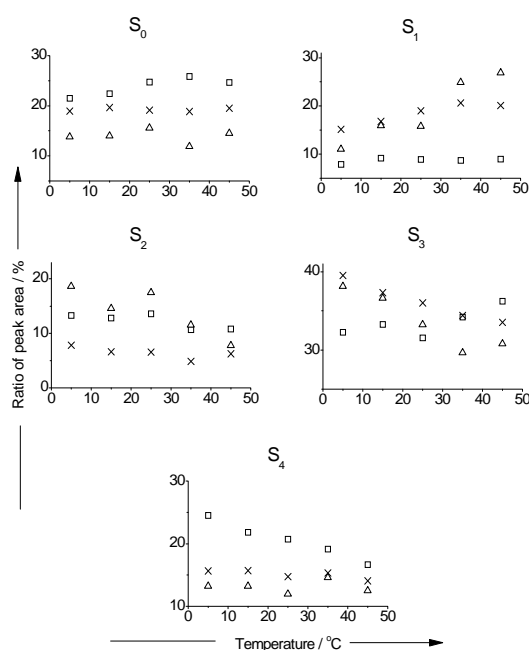


図7．もぐりこみ深さ 356 nm (Δ), 257 nm (\times), 187 nm (\square) における S_0 - S_4 の温度依存性

もぐりこみ深さ 356 nm のときの各成分の面積比の変化は、 S_0 は温度上昇に伴って緩やかに増加した。 S_1 は温度上昇に伴い増加し、 S_2 と S_3 は減少した。 S_4 は温度上昇に伴い、緩やかに減少した。この結果は透過法によって得られた傾向と同様であったことから、界面から 356 nm に存在している水はバルクに近い

水素結合ネットワーク構造を形成していると考えられる。もぐりこみ深さが 257 nm の場合においては、356 nm のときに示した傾向と類似しているが、 S_1 と S_2 の面積比の変化が緩やかになっている。もぐりこみ深さ 187 nm の場合においては、 S_0 と S_4 の面積比は温度上昇に伴って増加または減少しているが、 S_1 と S_2 は面積比の変化がほとんどない。また、 S_3 の面積比はもぐりこみ深さ 257 nm や 356 nm の場合と異なり、温度上昇に伴い、緩やかに増加することが分かった。もぐりこみ深さが浅くなることで、温度による各成分の変化が緩やかになったことから、界面近傍では、バルクと比較すると、熱運動による水素結合の切断が起こりづらいことが示唆された。そのため、もぐりこみ深さが浅くなると、温度変化に対するスペクトルのシフトが小さくなると考えられる。

4.3. まとめ

SFG 法では、界面水の構造は表面の 1、2 分子層で説明できるとされているが、ATR-NIR 法による評価では、少なくとも界面 ~ 300 nm の領域で界面水の構造に変化が生じていることが示唆され、界面水は SFG 法で言われているような界面厚みよりも厚いのではないかと考えられる。また、測定したスペクトルを成分分離することで、界面近傍には 2 種類の水素結合構造の存在が示唆された。界面近傍の水は温度依存性スペクトルより、水素結合が切断されにくい構造を形成していると考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計4件)

(1) Water structure at the interfaces between a zwitterionic self-assembled monolayer / liquid water evaluated by sum-frequency generation spectroscopy, Kouji Nomura, Shiho Mikuni, Tadashi Nakaji-Hirabayashi, Makoto Gemmei-Ide, Hiromi Kitano, Hidenori Noguchi, Kohei Uosaki, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **2015**, *135*, 267-273.

(2) Mid-infrared spectroscopic investigation of the perfect vitrification of poly(ethylene glycol) aqueous solutions, Makoto Gemmei-Ide, Takashi Miyashita, Shigehiro Kagaya, Hiromi Kitano, *Langmuir*, **2015**, *31*, 10881-10887.

(3) Chelating resin immobilizing carboxymethylated polyethyleneimine for selective solid-phase extraction of trace elements: Effect of the molecular weight of polyethyleneimine and its carboxymethylation rate, Shigehiro Kagaya, Takehiro Kajiwara, Makoto Gemmei-Ide, Waka Kamichatani, Yoshinori Inoue,

Talanta, 2016, 147, 342-350.

(4) Diffusion Controlled Recrystallization of Water Sorbed into Poly(meth)acrylates Examined by Variable Temperature FT-IR and Molecular Dynamics Simulation, Nobuhiro Yasojima, Mizuki Fukuoka, Horomi Kitano, Shigehiro Kagaya, Tatsuya Ishiyama, Makoto Gemmei-Ide, *The Journal of Physical Chemistry B*, 2017, 121, 5133-5141.

〔図書〕(計1件)

(1) 「環境と化学 - グリーンケミストリー入門」荻野和子 他 編, 第7章, 北野博巳, 源明 誠, 東京化学同人 (2018.1)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

源明 誠 (GEMMEI-IDE, Makoto)

富山大学・大学院理工学研究部・准教授

研究者番号：70334711