

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 1 日現在

機関番号：57101
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23760732
 研究課題名（和文）超臨界 CO₂ 中での精密重合によるポリマーグラフトナノ粒子の合成と光学材料への応用
 研究課題名（英文）Formation of Polymer Grafted Nanoparticles in Supercritical CO₂
 研究代表者
 松山清（MATSUYAMA KIYOSHI）
 久留米工業高等専門学校・生物応用化学科・准教授
 研究者番号：40299540

研究成果の概要（和文）：

超臨界および液体状態の高圧二酸化炭素中でのナノ粒子の分散および表面改質法について検討した。高圧二酸化炭素中で発生する超音波キャビテーションは、ナノ粒子の分散に有効であることが分かった。特に本研究では、ZnO 量子ドットナノ粒子に着目し、粒子の分散および表面改質法について検討した。表面改質材として 3-(trimethoxysilyl)propyl-methacrylate (TPM) を用いることで、高濃度に ZnO ナノ粒子が完全分散した蛍光特性を有する透明性 PMMA フィルムを合成することに成功した。また、シリカで表面修飾した ZnO ナノ粒子は、バイオイメージングプローブとして有効であることを示した。

研究成果の概要（英文）：

We describe the dispersion and surface modification techniques of nanoparticles using ultrasonic irradiation in high-pressure carbon dioxide (CO₂). Shock waves generated by collapsing cavitation bubbles induced with ultrasonic irradiation accelerated the deagglomeration and dispersion of nanoparticles in high-pressure CO₂. ZnO nanoparticle quantum dots (QDs)/poly(methyl methacrylate) (PMMA) composites are synthesized by conventional radical polymerization in the presence of 3-(trimethoxysilyl)propylmethacrylate (TPM) and high-pressure CO₂. The transparent polymeric hybrid films of ZnO nanoparticle QDs and PMMA are obtained. Use of the silica-coated ZnO-nanoparticle QDs with biotin in cell-labeling applications was attempted.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：工学

科研費の分科・細目：プロセス工学・反応工学・プロセスシステム

キーワード：気・液・固・超臨界流体反応操作

1. 研究開始当初の背景

研究室レベルにおいて、気相および液相法をベースとする種々の特性を有するナノ粒子の合成法が検討されている。ナノ粒子の工業的規模での利用を想定した場合、ナノ粒子の有するポテンシャルを最大限に発揮するために微細構造が制御されたナノ粒子集合体のプロセス（製造技術）の開発が望ま

れている。特に微細構造が制御されたナノ粒子集合体は、新たなフォトニック（光学）材料としてのポテンシャルを有しており、その工業的規模での製造技術の開発が望まれている。微細構造が制御されたナノ粒子集合体の製造プロセスは、有機溶媒-水系の液液界面における両親媒性分子の自己組織化機能を利用した液相法の検討が多い。しかし、こ

これらの手法では、残留有機溶媒や液液界面における界面張力による微細構造の崩壊、液体溶媒に起因するナノ粒子同士の癒着や凝集が問題となり、ナノ粒子が有するポテンシャルを十分に発揮する微細な構造を達成することは困難な場合が多い。また、一般に液相法ではナノ粒子の表面修飾や微細構造を形成するにあたり、反応の各段階や構造形成過程において、未反応材料の除去や構造形成のために煩雑な多くのプロセスを必要とするばかりではなく、多量の有機溶媒を使用するため環境負荷が非常に大きいという問題点が指摘されてきた。一方、気相法では、環境低負荷で高純度の粒子径の小さなナノ粒子が製造可能であるものの、合成されたナノ粒子の構造形成は難しい。ナノ粒子を工業的に利用するために液相および気相法をベースとしたナノ粒子集合体のプロセッシング（製造技術）が検討されているが、液相法においては溶媒除去時における界面張力による微細構造の崩壊、気相法では構造形成が困難といった問題点が指摘されている。

2. 研究の目的

本研究では、表面修飾ナノ粒子集合体形成時の液相および気相法の問題点を同時に解決するための手法として、超臨界二酸化炭素を合成場として用いる微細構造が制御されたナノ粒子集合体のプロセッシングの開発に挑戦する。特に本研究では、ZnO 量子ドットナノ粒子に着目し、これらの超臨界 CO₂ 中での分散、高分子、シリカ、生体分子ビオチンによる表面修飾技術を提案し、優れた蛍光特性を有するナノ粒子集合体の環境低負荷型製造プロセスの開発を研究目標とする。

3. 研究の方法

(1) 高圧二酸化炭素中でのナノ粒子の分散および表面改質システムの開発

本研究では、超音波ホーンを高圧セル内に導入した高圧二酸化炭素中での分散システムを試作する。高圧状態の液体二酸化炭素中で発生する超音波キャビテーションを利用して、ZnO 量子ドットなどのナノ粒子の分散技術を確立する。ZnO 量子ドットナノ粒子は、アルコール溶液中での酢酸亜鉛を原料とするゾルゲル法により合成した。合成した ZnO 量子ドットナノ粒子は、高圧二酸化炭素中での超音波処理を施したのち、シランカップリング材を用いて、表面特性の改質を試みた。

(2) 表面修飾 ZnO ナノ粒子のフォトニック材料への応用

本研究では、有機溶媒および高圧二酸化炭素中での分散性を有する ZnO 量子ドットナノ粒子を合成するために、3-(trimethoxysilyl)propylmethacrylate

(TPM) による ZnO 量子ドットナノ粒子の表面改質を試みた。TPM は、構造中にビニル基を有するため、ビニルモノマーとの共重合が可能であり、PMMA 等のポリマーマトリックス中に ZnO 量子ドットナノ粒子を均一に分散可能であることが期待できる。

一方、水中での分散性を有する ZnO 量子ドットナノ粒子を合成するために、tetraethyl orthosilicate (TEOS) による表面修飾を試みた。さらに TEOS で表面処理を施した後、3-aminopropyltrimethoxysilane (APTMS) を用いて、シリカで表面修飾した ZnO 量子ドットナノ粒子表面にアミノ基を導入した。その後、sulfosuccinimidyl-6-(biotin-amido)-hexanoate (sulfo-NHS-LC-biotin) を用いて、ZnO 量子ドットナノ粒子表面に生体分子ビオチンを導入し、バイオイメージングプローブとして利用可能な表面修飾 ZnO 量子ドットナノ粒子の合成を試みた。

4. 研究成果

高圧容器内に設置した超音波ホーンの先端にて発生するキャビテーションの様子を図 1 に示す。超音波照射前 (図 1(a)) および照射中 (図 1(b)) の超音波ホーン先端近傍の写真を比較すると明らかのように、超音波照射により発生したキャビテーションに起因する気泡が、超音波ホーン先端から下方に向かって発生していることが観察された。また、超音波照射前においては高圧セル下部に沈降していた粒子 (TiO₂) は (図 1(c))、超音波の照射にともない高圧セル内で激しく分散していることが分かった (図 1(d))。

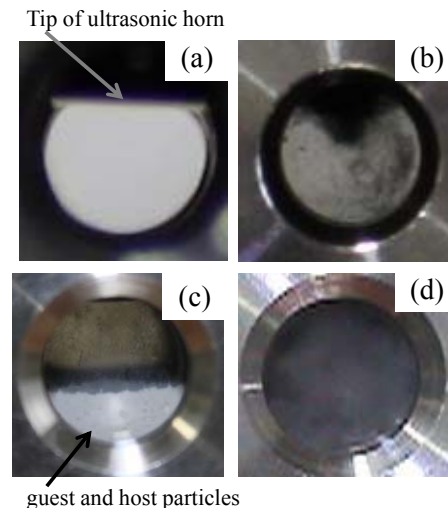


図 1 高圧二酸化炭素中での超音波キャビテーション、(a) 放出前、(b) 放出中、(c) 分散前の TiO₂ ナノ粒子、(d) 超音波キャビテーションにより分散中の TiO₂ ナノ粒子

高圧二酸化炭素中での超音波照射による PMMA 粒子 (ホスト粒子) とアルミナナノ粒子 (ゲスト粒子) の複合化実験を試みた。PMMA

粒子の原粉 (図 2 (左図)) と比較すると明らかなように、超音波照射により凝集していたアルミナナノ粒子の分散が促進され、アルミナ粒子が PMMA 粒子表面に均一に被覆されていることがわかる (図 2 (右図))。

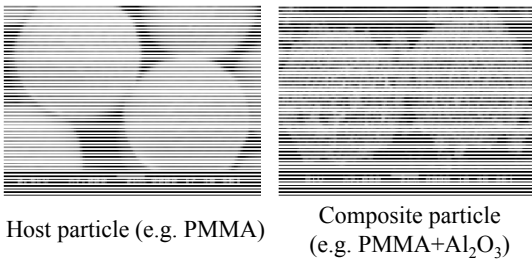


図 2 高圧二酸化炭素中での超音波キャビテーションを利用した PMMA 粒子 (ホスト粒子; 左図) とアルミナナノ粒子との複合化粒子 (右図)

さらに本研究では、フォトニック材料として利用可能なナノ粒子として、ZnO 量子ドットナノ粒子に着目し、これらの高圧二酸化炭素中での分散および複合化方法について検討した。

ZnO 量子ドットナノ粒子は、酢酸亜鉛を出発原料に、エタノール溶液中での加水分解反応により合成した。合成した直後の ZnO ナノ粒子は、エタノール中で凝集・白濁しているものの、TPM により表面修飾することにより、図 3 (上図) に示すように完全分散した。この溶液にブラックライト (350nm) を照射することで、図 3 (下図) に示すような蛍光特性を示した。

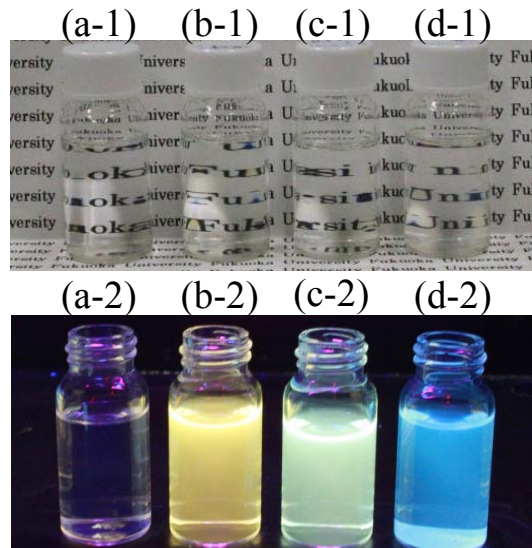


図 3 TPM により表面修飾した ZnO 量子ドットナノ粒子のエタノール中での分散、上図は室内写真、下図は暗室にてブラックライト照射 (350nm)、酢酸亜鉛濃度; 0.22 mM, LiOH·H₂O 濃度; (a) 0, (b) 0.21, (c) 0.36, and (d) 0.86 mM.

ZnO 量子ドットナノ粒子の蛍光特性は、図 3 (下図) および図 4 に示すように ZnO ナノ粒子の合成時における LiOH 濃度により蛍光特性を制御可能であることがわかった。

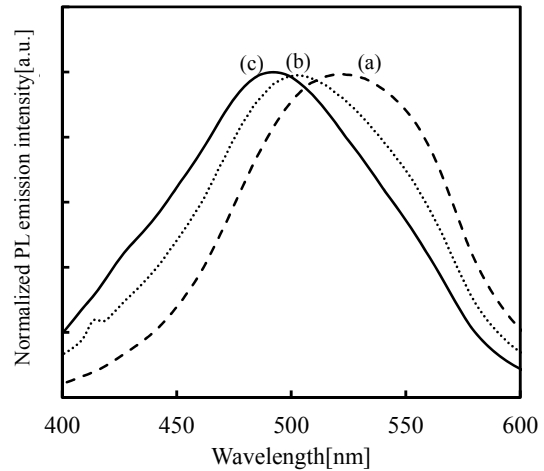


図 4 ZnO 量子ナノ粒子の蛍光スペクトルに及ぼす LiOH 濃度の影響; (a) 0.21, (b) 0.36, and (c) 0.86 mM

また、TPM により表面修飾した ZnO 量子ドットナノ粒子を超臨界 CO₂ 中 (70°C、20 MPa) にてメタクリル酸メチル (MMA) モノマーと共重合することにより、PMMA-ZnO 量子ドットナノ粒子複合体の形成を試みた。超臨界 CO₂ 中での重合には、界面活性剤として perfluoropolyether (DuPont 製 Krytox) を使用した。図 5 に示すように、直径数 μm の球形の粒子を得ることができた。

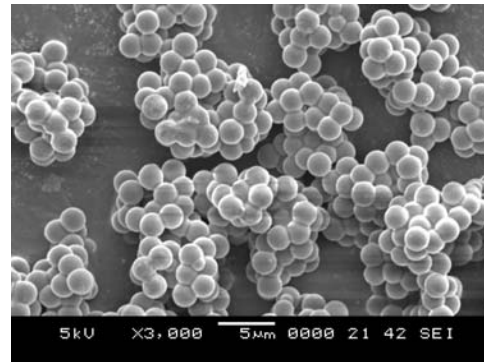


図 5 超臨界 CO₂ (70°C、20MPa) 中にて重合した PMMA-ZnO 量子ドットナノ粒子複合体の SEM 写真

また、得られた複合粒子を THF に溶解させた後、フィルム状に形成させることで図 6 (上図) に示すような透明なフィルムを得ることができた。これらのフィルムにブラックライト (350nm) を照射することで、図 6 (下図) に示すような蛍光特性を有するフィルムを形成することができた。蛍光特性は、図 3 および 4 にも示すように ZnO 合成時における LiOH 濃

度を変化させることで、制御可能であることがわかった。また、PMMA-ZnO 量子ドットナノ粒子複合体の断面の TEM 写真を図 7 に示す。数 nm のサイズの ZnO ナノ粒子は PMMA マトリックス中に均一に分散していることが分かる。

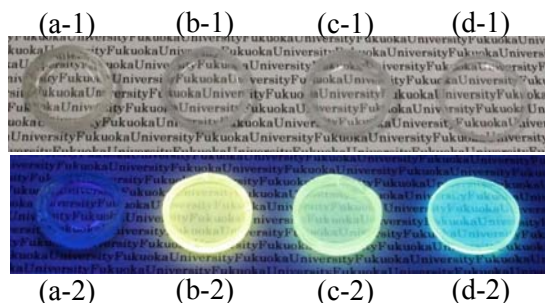


図 6 PMMA-ZnO 量子ドットナノ粒子の複合体フィルムの写真（上図）、複合フィルムにブラックライト（350nm）を照射した場合の写真（下図）、LiOH·H₂O 濃度 (a)0, (b)0.21, (c)0.36, (d)0.86 mM.



図 7 PMMA-ZnO 量子ドットナノ粒子複合体の TEM 写真

さらに本研究では、ZnO 量子ドットナノ粒子の水中での分散およびバイオイメージングプローブとしての利用方法について検討した。図 8 に示すようなスキームにより、ゾルゲル法にて合成した ZnO 量子ドットナノ粒子を tetraethyl orthosilicate (TEOS) にて、SiO₂ 層によりコーティングし、水中でも安定して分散し、蛍光性を有する ZnO 量子ドットナノ粒子の調製を試みた。さらに、3-aminopropyltrimethoxysilane および sulfosuccinimidyl-6-(biotin-amido) hexanoate (sulfo-NHS-LC-biotin) を用いて、シリカ修飾 ZnO 量子ドットナノ粒子表面に生体分子ビオチンを導入した。

ビオチン修飾した ZnO 量子ドットナノ粒子の TEM 写真および動的光散乱により決定した粒子径分布の測定結果を図 9、10 に示す。数 nm サイズの ZnO 量子ドットナノ粒子は、シリカマトリックス中に分散していることが分

かる。

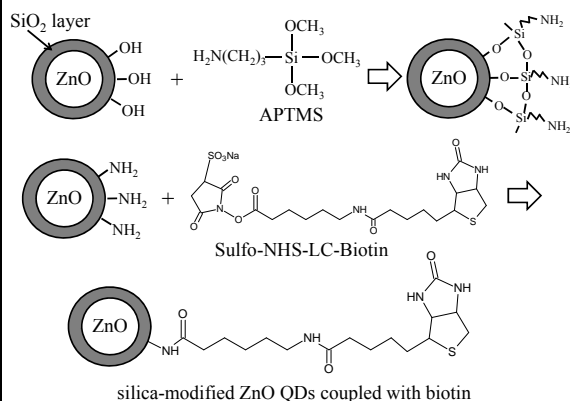


図 8 ZnO 量子ドットナノ粒子へのビオチンの導入スキーム

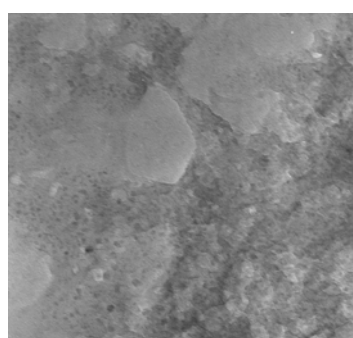


図 9 シリカにより表面修飾した ZnO 量子ドットナノ粒子への TEM 写真

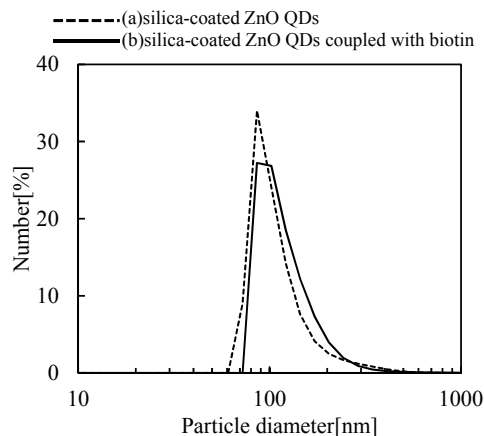
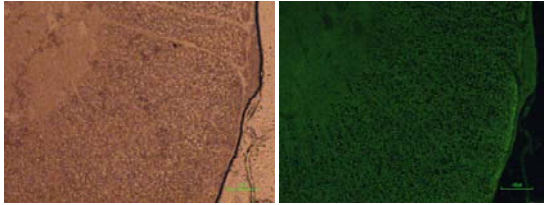


図 10 シリカにより表面修飾した ZnO 量子ドットナノ粒子の粒子径分布

さらにビオチンを導入したシリカ修飾 ZnO ナノ粒子の生体細胞のイメージングプローブとしての応用方法について検討した。ラット脊髄の神経細胞の蛍光顕微鏡写真を図 11 に示す。ラット脊髄の神経細胞は、アビジン化抗体により前処理してある。ビオチンを導

(a)silica-coated ZnO QDs coupled with biotin



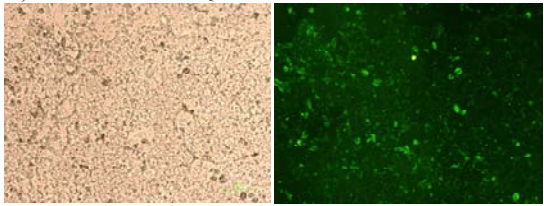
(b)silica-coated ZnO QDs



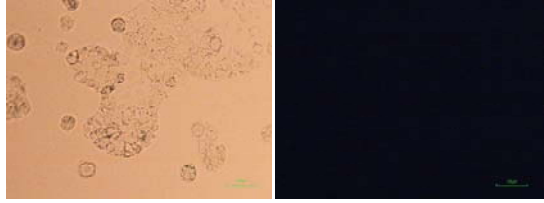
— 100 μm

図 11 ラット脊髄の神経細胞の蛍光顕微鏡写真、(a)ビオチンを表面に導入したシリカ修飾 ZnO 量子ドットナノ粒子を用いた場合、(b)ビオチンを表面に導入していないシリカ修飾 ZnO 量子ドットナノ粒子を用いた場合

a)silica-coated ZnO QDs with biotin



(b)silica-coated ZnO QDs



— 100 μm

図 12 ガン細胞 Caco-2 のアクチンフィラメントの蛍光顕微鏡写真、(a)ビオチンを表面に導入したシリカ修飾 ZnO 量子ドットナノ粒子を用いた場合、(b)ビオチンを表面に導入していないシリカ修飾 ZnO 量子ドットナノ粒子を用いた場合

入した ZnO 量子ドットナノ粒子を用いてイメージング処理を行った場合、図 11(a)に示すように神経細胞を確認することができた。一方、図 11(b)に示すように、ビオチンを ZnO 量子ドットナノ粒子表面に導入しない場合、ビオチンとアビジンの特異的結合が生じないことから、神経細胞を可視化することはできなかった。

さらに同様の手法を用いて、ガン細胞 Caco-2 のアクチンフィラメントのイメージングを試みた。Caco-2 細胞は、ファロイジン化アビジンを用いて前処理を施してある。ビ

オチンを導入した ZnO 量子ドットナノ粒子を用いてイメージング処理を行った場合、図 12(a)に示すように細胞中のアクチンフィラメントを確認することができた。一方、図 12(b)に示すように、ビオチンを ZnO 量子ドットナノ粒子表面に導入しない場合、ビオチンとアビジンの特異的結合が生じないことから、細胞中のアクチンフィラメントを可視化することはできなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 6 件)

1) K. Matsuyama, K. Mishima, T. Kato, K. Ohara, Formation of Porous Glass via Core/Shell-structured Poly(methyl methacrylate)/Powder Glass Prepared by Ultrasonic Irradiation in Liquid CO₂, J. Supercritical Fluids, 査読有, Vol. 57, No. 2, 2011, 198-206

<http://dx.doi.org/10.1016/j.supflu.2011.02.017>

2) 松山清, 超臨界流体(材料製造), 化学工学, 査読無, Vol. 75, No. 11, 2011, 670

3) 三島健司, 松山清, 反応分散染料を用いた超臨界二酸化炭素中でのセルロース繊維の染色, ジャスコレポート超臨界最新特集号, 査読無, No. 11, 2012, 1-4

4) K. Matsuyama, K. Mishima, T. Kato, K. Irie, K. Mishima, Transparent Polymeric Hybrid Film of ZnO Nanoparticle Quantum Dots and PMMA with High Luminescence and Tunable Emission Color, J. Colloid & Interface Sci., 査読有, Vol. 367, 2012, 171-177

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2011.10.003>

5) 松山清, 三島健司, 高压二酸化炭素中での超音波キャビテーションを利用した微粒子の複合化技術の開発, 高压力の科学と技術, 査読有, Vol. 22, No. 2, 2012, 104-112

<http://dx.doi.org/10.4131/jshpreview.22.104>
6) K. Matsuyama, Neil Ihsan, K. Irie, K. Mishima, T. Okuyama, H. Muto, Bioimaging Application of Highly Luminescent Silica-coated ZnO-nanoparticle Quantum Dots with Biotin, J. Colloid & Interface Sci., 査読有, Vol. 399, 2013, 19-25

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2013.02.047>
〔学会発表〕(計 6 件)
(1) 松山清, 三島健司, 液体二酸化炭素中での超音波分散技術による微粒子の複合化

と多孔質材料合成への応用, 化学工学会
第43回秋季大会, 2011年9月15日

- (2) K. Mishima, H. Yokota, T. Kato,
T. Suetsugu, X. Wei, K. Irie, K. Mishima,
M. Fujiwara, H. Shimura, K. Matsuo,
K. Matsuyama, T. Harada, Preparation of
Extracellular Matrix from Animal Tissue
by Ultrasonic Irradiation in Liquid CO₂,
The 6th International Symposium on
Molecular Thermodynamics and Molecular
Simulation (MTMS'12), 2012年9月26日
- (3) K. Mishima, M. Honjo, H. Yokota, T. Kato,
T. Suetsugu, X. Wei, K. Irie, K. Mishima,
M. Fujiwara, T. Kakuda, K. Matsuyama,
T. Harada, Formation of Microcomposites
α-Lipoic Acid and Hydrogenated Colza
Oil by PGSS, The 6th International
Symposium on Molecular Thermodynamics
and Molecular Simulation (MTMS'12),
2012年9月26日
- (4) 尾方将剛, 山崎有司, 松山清, 奥山哲也,
武藤浩行, Ga ドープした ZnO ナノ粒子の微
細構造に関する研究, 2012年度応用物理学
会九州支部学術講演会, 2012年12月1日
- (5) 橋本翔太郎, 山崎有司, 松山清, 奥山哲
也, 武藤浩行, TPM での表面改質による
ZrO₂ ナノ粒子の分散性向上と蛍光特性,
第152回日本金属学会講演大会, 2013年3
月27日
- (6) 森彩奈, 山崎有司, 松山清, 奥山哲也, 武
藤浩行, Eu をドープした ZrO₂ ナノ粒子の
合成と蛍光特性, 第152回日本金属学会講
演大会, 2013年3月27日

[その他]

ホームページ等

[http://top25.sciencedirect.com/subject/
physics-and-astronomy/21/journal/journa
l-of-colloid-and-interface-science/0021
9797/archive/38](http://top25.sciencedirect.com/subject/physics-and-astronomy/21/journal/journal-of-colloid-and-interface-science/00219797/archive/38)

雑誌論文6)が、J. Colloid & Interface Sci.
誌の2012年1~3月のHottest Articles25
に選ばれる。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松山清 (MATSUYAMA KIYOSHI)

久留米工業高等専門学校・生物応用化学
科・准教授

研究者番号：40299540