

## (第15回) 2019年度・研究助成報告

研究題名	高度な再分散性を有するナノ粒子懸濁液の乾燥粉末化技術 ～糖/界面活性剤複合マトリクスの利用
研究期間	2019年4月1日～2021年3月31日
研究機関・所属 研究者名	岡山大学大学院自然科学研究科応用化学専攻 今村 維克

## 1. 2019 (2020) 年度研究成果の概要

ナノ粒子の合成法および応用研究が盛んに行われている現状において、ナノ粒子の分散性を長期間維持する技術は極めて重要である。一方、タンパク質はその水溶液を糖と極微量の界面活性剤(sucrose monolaurate など)とともに凍結乾燥するとタンパク質の生理活性はもちろん、分散性も高度に維持することができる。このタンパク質に対する分散安定化技術をナノ粒子に応用した。

**方法** 具体的には、まず、市販の金ナノ粒子(60 nm)懸濁液の原液に少量の糖および糖界面活性剤(それぞれ2 mg/mL および20 µg/mL)を添加し、凍結乾燥した。得られた乾燥試料を同量の精製水で再懸濁したのち、540 nm (分散状態の金ナノ粒子に起因するピーク) と780 nm (凝集した金ナノ粒子による濁度) の吸光度を測定し、金ナノ粒子の凝集度として算出した。また、Surface Enhanced IR Absorption Spectroscopy (SEIRAS)技術を利用して、金表面上で糖および糖界面活性剤水溶液を凍結乾燥したときの、金表面近傍の乾燥試料のIR吸収スペクトルを測定した。

**結果** 種々の糖とSE-C16の組み合わせについて凍結融解および凍結乾燥後における再懸濁液の凝集度を測定した。(Fig.1) 多糖であるdextranについては、単体でも高度な分散安定化作用が見られたが、その他の糖についてはSE-C16単体とも顕著なAuNPsの凝集が認められた。これに対し、糖/SE-C16複合系では、それぞれ単独よりも高度に凝集が抑制された。また、表面状態が異なるAuNPs (Sigma-Aldrich社製) についても糖/SE-C16複合系はほぼ同程度の分散安定化作用を示すことが分かった。以上のことから糖/界面活性剤複合系はタンパク質安定化作用と同様、高度な分散安定化作用を有することが分かった。また、SEIRAS分析により、糖単体の水溶液を凍結乾燥した場合、金表面近傍には糖が存在しなかったのに対し、糖界面活性剤であるSE-C16を添加すると、糖および糖界面活性剤ともに金表面近傍に存在していることが分かった。これより、SE-C16分子はAu表面に局在し、糖を主成分とするアモルファスマトリクスとAuを近づける役割を果たしていると考えら、この作用が糖/SE-C16複合系の高度な分散安定化作用であると考えられる。

## 2. 助成期間内での研究成果の概要

糖および少量の糖界面活性剤からなる複合系を用いてナノ粒子懸濁液の凍結乾燥および凍結(融解)操作における分散性保持を試みた。ナノ粒子としては市販の金ナノ粒子を用い、凍結乾燥および凍結融解後の凝集度は可視光域の吸収スペクトルから定量化した。また、無電解メッキにより金ナノ粒子を析出させたFTIR測定用プリズムを用いて、金ナノ表面と糖および糖界面活性剤の相互作用を評価した。

**結果** 凍結乾燥時における金ナノ粒子の凝集抑制に対する糖／糖界面活性剤複合系の有効性およびメカニズムについては前年度（2019年度）の通りである。一方、凍結・融解操作による金ナノ粒子の凝集特性と各種添加物質の凝集抑制効果を調査した結果、ほとんどの添加物質について凍結乾燥操作よりも凝集が生じやすいことが分かった。凍結および融解時の温度を変化させた場合の結果より、特に融解操作が金ナノ粒子の凝集を引き起こすことが分かった。凝集抑制剤としては、凍結乾燥操作と同様に糖／糖界面活性剤複合系が有効であった。金表面での添加物水溶液の凍結過程を SEIRAS により解析した結果、凍結・融解時の凝集抑制効果のメカニズムとして、（1）溶質の濃縮によるナノ粒子の運動性の抑制と（2）粒子表面への添加物質（糖界面活性剤など）の吸着による粒子間立体反発力の発現の二つが示唆された。また、本研究を通じて、凍結乾燥および凍結（融解）ともに極めて少量の添加で金ナノ粒子の凝集を高度に抑制する物質を見出した。その一つである Arabic gum 水溶液を金表面で凍結、または凍結乾燥した際の SEIRAS スペクトルを測定・比較した。その結果、凍結操作により Au 表面に Arabic gum は濃縮されるが、特定の官能基が選択的に Au 表面に近接することはなかった。一方、凍結乾燥後のスペクトルでは、COO 由来の IR 吸収ピークが検出されたことから、乾燥状態において Arabic gum 分子内のカルボキシル基が金表面に配向・局在していることが示唆された。

### 3. 研究発表

#### 学会発表

1. 門脇 美季・今中 洋行・石田 尚之・今村 維克, "糖-界面活性剤複合系を用いた金ナノ粒子の凍結・乾燥操作における分散安定化" 日本食品工学会第 20 回年次大会, P-50 (2019.8.8. 香川)
2. 門脇 美季・今中 洋行・石田 尚之・今村 維克, "Surface Enhanced Infrared Absorption Spectroscopy (SEIRAS)による食品成分間相互作用の検出・評価" 日本食品工学会第 20 回年次大会, D-05 (2020.8.7-19. 三重→Web 開催)
3. 今村 維克・門脇 美季・横田 秀隆・今中 洋行・石田 尚之, "糖-界面活性剤複合による金ナノ粒子の乾燥操作における分散安定化" 日本薬剤学会第 35 年会, 2-4-08 (2020.5.15. 熊本→誌上開催)
4. 門脇 美季・今中 洋行・石田 尚之・今村 維克, "Surface Enhanced Infrared Absorption Spectroscopy (SEIRAS)による金表面およびタンパク質吸着層表面近傍における分子間相互作用の直接解析" 化学工学会広島大会 2020, A01 (2020.12.11. 広島→誌上開催)

#### 論文発表

1. K H. Yokota, M. Kadowaki, T. Matsuura, H. Imanaka, N. Ishida, K. Imamura, The use of a combination of a sugar and surfactant to stabilize Au nanoparticle dispersion against aggregation during freeze-drying, Langmuir, 24 (2020) 6698-6705.