

超音波還元法による金・酸化鉄複合ナノ材料の調製 およびグルタチオンの磁気分離

水越克彰、清野 智史[†]、興津健二[‡]、木下卓也^{*}、藤田直幸、中川 貴^{*}、山本孝夫^{*}
(阪府高専、[†]阪大産研、[‡]阪府大院工、^{*}阪大院工)

1 背景

ヒトゲノム解読が一段落し、今後医療のあり方はテーラーメイド医療へとシフトしていくと考えられる。そのためには、特定の生体分子を簡便にかつ選択的に分離する技術の確立が不可欠である。本研究は、メルカプト基を有するトリペプチド、グルタチオン(以下 GSH)を表面に吸着し、外部磁場によって容易に分離できるような新規な金・酸化鉄複合ナノ材料の開発を目的として行った。

2 実験方法

HAuCl₄ および磁性酸化鉄(γ -Fe₂O₃)ナノ粒子を含む水溶液を調製し、アルゴンガスでバブリングした後にイソプロピルアルコール(以下 IPA)を添加し、超音波を照射した。酸化鉄ナノ粒子はシーアイ化成社より購入した。超音波照射は 20 ℓ の恒温槽中で 200 kHz、200 W で行った。照射にともなう金(III)イオン濃度の経時変化は比色法によって定量した。得られた生成物を含む懸濁溶液を、磁気分離カラムを用いて磁性成分と非磁性成分に分別した。また透過型電子顕微鏡の観察結果とあわせて総合的に金ナノ粒子と酸化鉄ナノ粒子の複合化の状況を判断した。さらに、あらかじめ調製した金ナノ粒子を酸化鉄ナノ粒子と混合し、複合化することも試みた。

調製した金・酸化鉄複合ナノ材料の分散液に既知量の GSH を添加し、数分放置した後磁気分離カラムで磁性成分を除去した。非磁性成分に含まれている GSH の量を 5-メルカプト-2-ニトロ安息香酸を用いた比色法で定量し、磁性成分に吸着された GSH の量を算出した。

3 実験結果

HAuCl₄、酸化鉄ナノ粒子および IPA を含む水溶液に対して超音波を照射したところ、照射に伴い溶液の色は赤味を帯びていった。溶液のスペクトルを測定したところ、540 nm 付近に金ナノ粒子の生成を示す表面プラズモン共鳴吸収が見られたことから、超音波還元によって金ナノ粒子が生成したことが分かる。Fig.1 はこうして得られた試料の磁性成分および非磁性成分の溶液のスペクトルである。非磁性成分のスペクトルにはプラズモン吸収が見られないことから、生じた金ナノ粒子は磁性酸化鉄

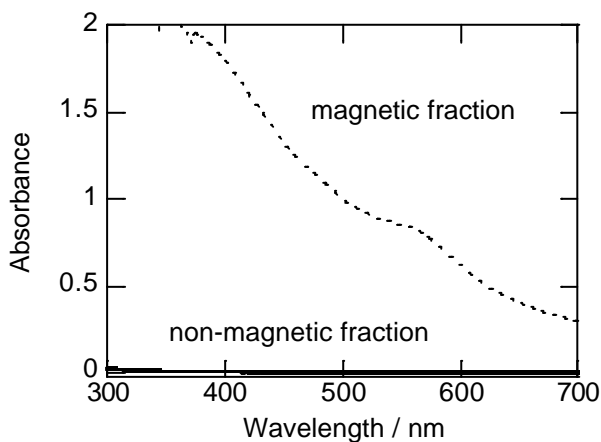


Fig.1 Absorption spectra of magnetic and non-magnetic fractions of sonochemically prepared Au/ γ -Fe₂O₃ composite nanomaterials.

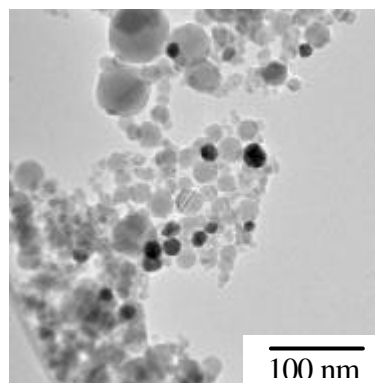


Fig.2 TEM image of sonochemically prepared Au/ γ -Fe₂O₃ composite nanomaterials.

ナノ粒子と複合化しており、その結果磁性成分として分別されたことが分かる。得られた複合材料は、少なくとも約 70 nm までは加熱による金ナノ粒子の脱離は見られず安定であった。

Fig. 2 に得られたナノ材料の透過型電顕写真を示した。コントラストの強いものが金ナノ粒子で弱いものが酸化鉄ナノ粒子である。両者がそれほど密接に複合化しているとは見受けられないが、単独で存在する金ナノ粒子はどの視野にも見られず、磁気分離の結果からも複合化していることは否めない。また複合化する金ナノ粒子の粒径は金(III)イオンの初期濃度に依存することがわかった。

超音波照射に伴う金(III)イオン濃度の経時変化を調べたところ、酸化鉄ナノ粒子の存在に関わらず金(III)イオン濃度はほぼ同速度で還元されることから、反応の過程における金(III)イオンと酸化鉄ナノ粒子の直接的な酸化還元反応は起こらないことがわかる。さらに金ナノ粒子と酸化鉄ナノ粒子の間の親和力について調べるために、あらかじめ種々の条件下で調製した金ナノ粒子を酸化鉄ナノ粒子と混合することで複合化を試みた。IPA 存在下で調製した金ナノ粒子は酸化鉄ナノ粒子と複合化した。一方、ナノ粒子の保護剤として作用するドデシル硫酸ナトリウムやポリビニルアルコールを含む系で調製した金ナノ粒子は、酸化鉄ナノ粒子とは複合化せず、混合後磁気分離すると非磁性成分に金ナノ粒子の存在を示す表面プラズモン吸収が見られた。この結果から、金と酸化鉄が複合化するためには、金ナノ粒子の表面が有機物等で保護されていない裸の状態が好ましいことが分かった。複合化する金ナノ粒子の量は金ナノ粒子と酸化鉄ナノ粒子の混合比を変えることにより制御できた。また溶液の pH も複合化に影響を及ぼし、担体となる酸化鉄の等電点(pH = 9.5)を挟んでアルカリ側では複合化が起こらないことを確認した。

得られた複合材料に対する GSH の吸着量および複合化している金ナノ粒子の粒径を Table 1 にまとめた。酸化鉄ナノ粒子共存系で調製したもの(coexisting)とあらかじめ調製した金ナノ粒子を酸化鉄ナノ粒子と混合して得られたもの(mixing)とでは、GSH の吸着量にほとんど差が見られなかった。これらの結果より、本磁性複合ナノ材料は、まず金ナノ粒子が生成した後に酸化鉄ナノ粒子と複合化することで生成すると考えられる。本法で得られた複合材料は、過去に報告のあった放射線による生成物¹⁾に比べて GSH 吸着量が高くなった。その要因としては、金ナノ粒子表面が分散剤で保護されていないために吸着能が高いことに加えて、超音波作用による分散性の向上が考えられる。

超音波還元法を利用すると数分の照射時間で金・酸化鉄複合ナノ材料が得られ、高い GSH 吸着能を示した。本法は金(III)イオンの還元還元剤や、生じたナノ粒子に対して保護剤を必要としないので、生成したナノ材料は他の方法に比べて生体適合性が高いと思われる。

Table 1 Amount of adsorbed glutathione on the surface of nanomaterials.

	Au/?-Fe ₂ O ₃ (w/w)	Concentration (g L ⁻¹)	Average diameter of Au nanoparticles(nm)	Adsorbed GSH (?M g ⁻¹)
coexisting Au/?-Fe ₂ O ₃	1/10	0.22	20.4	143.0
mixing Au/?-Fe ₂ O ₃	1/10	0.22	21.5	120.6
radiochemical Au/?-Fe ₂ O ₃ ¹⁾	1/10	1.1	5.0	65.5
?-Fe ₂ O ₃	-	0.2	21.0	66.5

4 謝辞

本研究の一部は財団法人近畿地方発明センターの助成によって行われた。

5 参考文献

1) S. Seino et al., Chem. Lett., 32 690 (2003).

Sonochemical Preparation of Composite Nanomaterials of Au/ γ -Fe₂O₃ and Magnetic Separation of Glutathione

Yoshiteru Mizukoshi, Satoshi Seino[†], Kenji Okitsu[‡], Takuya Kinoshita, Naoyuki Fujita, Takashi Nakagawa and Takao A. Yamamoto

Osaka Prefectural College of Technology, 26-12, Saiwai-cho, Neyagawa, Osaka, 572-8572, Japan

[†]The Institute of Scientific and Industrial Research, Osaka University, 8-1, Mihogaoka, Ibaraki, Osaka, 567-0047, Japan

[‡]Graduate School of Engineering, Osaka Prefecture University, 1-1, Gakuen-cho, Sakai, Osaka, 599-8531, Japan

Graduate School of Engineering, Osaka University, 2-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan

Abstract

We prepared Au/ γ -Fe₂O₃ composite nanomaterials by sonochemically reducing Au(III) ions employing no stabilizer in the aqueous solution to form stable Au nanoparticles and allowing them to attach onto the surface of γ -Fe₂O₃ particles. Size of the formed Au nanoparticle depended on the initial concentration of Au(III) ions. The number of the Au nanoparticles, supported on each γ -Fe₂O₃ particle was controlled by changing the relative amounts of Au(III) ions and γ -Fe₂O₃ particles. The composite nanomaterials exhibited a high affinity with glutathione, a tripeptide with mercapto group so that separation and manipulation of glutathione in aqueous solutions could be performed by application of external magnetic field. Because the surfaces of the Au nanoparticles were not shielded by any stabilizers, or *naked*, sonochemically prepared Au/ γ -Fe₂O₃ composite nanomaterials seemed to show stronger affinity to the glutathione than those by the radiochemical method.