＜2011年オレオマテリアル賞＞

AFM および QCM-D を用いた環境応答性高分子の ミクロ構造直接観察と物性評価

Microstructural Observation and Property Characterization of Stimuli-Responsive Polymer Grafted onto Solid Surface Using AFM and QCM-D

石田 尚之

独立行政法人 産業技術総合研究所 フレキシブルエレクトロニクス研究センター

〒305-8565

茨城県つくば市東 1-1-1 つくば中央第 5-1

Naoyuki ISHIDA

Flexible Electronics Research Center,

National Institute of Advanced Industrial Science and

Technology (AIST)

Tsukuba Central 5-1, 1-1-1 Higashi, Tsukuba, Ibaraki 305-8565, Japan

論文要旨：外部刺激に応答する高分子を固定した表面は、表面の構造や物性を環境に応じて制御できることから、各種の機能性材料へ応用が期待されるが、幅広い応用のためには固定した分子の構造変化を詳細に理解することが重要である。筆者らは、感温性高分子 poly (N-isopropylacrylamide) (PNIPAM) をグラフトした表面について、原子間力顕微鏡と水晶振動子マイクロバランスを用い、温度変化による相転移に伴う構造・物性変化を、水中でその場・直接に評価する方法を確立した。また、電解質水溶液中での PNIPAM の挙動やグラフト密度の影響等についても検討を行った。本稿では、これらの研究成果について紹介する。

Abstract: It is well known that poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM) exhibits thermally responsive properties in water. At a lower critical solution temperature (LCST) of around 32°C, PNIPAM chains show phase transition from coil to globule state. Therefore, solids on which the PNIPAM is grafted are expected to be applicable to a wide variety of industrial fields using expanding-shrinking property depending on temperature. In this study, the structural changes of the PNIPAM chains grafted onto solid plates were investigated in aqueous solutions with an atomic force microscope (AFM) and a quartz crystal microbalance with dissipation (QCM-D). By AFM imaging, the transition of the grafted PNIPAM chains from brush to mushroom state was visualized. QCM-D signals showed significant change at around LCST, indicating that PNIPAM underwent a collapse by the dehydration of the chains. A complementary investigation indicated that a similar transition could be observed in solutions of high concentration electrolytes. It was also found that the grafting density of the PNIPAM chains had a critical role for the conformational behaviour of the PNIPAM.

Key words: responsive polymer, poly (N-isopropylacrylamide), atomic force microscope, quartz crystal microbalance, phase transition

1 はじめに

近年、外部の環境に応答して構造や性質が変化する機

能性の高分子が注目を集めており、これを用いてさまざまなインテリジェント材料を創出する試みが数多く行われている。中でも、ポリ-N-イソプロピルアクリルアミド (poly-N-isopropylacrylamide, PNIPAM) は代表的な感温性高分子であり、下限臨界溶解温度 (Lower Criti-

連絡者：石田 尚之
E-mail : n-ishida@aist.go.jp

cal Solution Temperature, LCST) を 32°C 付近にもつ¹⁾。LCST 以下の温度の溶液中で PNIPAM は水和し、伸展しているが、LCST 付近で脱水和による相転移が起き、それ以上の温度では凝集する。この高分子をグラフト等によって表面に固定すると、温度に応答して表面の構造や物性を変化させられるため、ドラッグデリバリーやクロマトグラフィー、生体物質などコロイド物質の固定・分離などへの応用が期待されている²⁻⁵⁾。

このような PNIPAM グラフト表面をさまざまな分野の新しい材料開発に応用する際には、分子の構造や物性をできる限り意のままに制御できることが求められる。そのために重要なのは、固定した分子の挙動を詳細に評価し、理解することである。これまでも表面にグラフトした PNIPAM の構造変化は、光散乱⁶⁾ や表面プラズモン共鳴⁷⁾、中性子反射率測定⁸⁾ などの方法で研究が行われてきているが、これらは主に表面上の PNIPAM の膜厚やプロファイルの変化といった、どちらかといえば一次元的な構造変化のみを評価したものであり、表面上でのモルフォロジー変化など三次元的な構造の変化は詳しく分っていなかった。そこで筆者は、英国リーズ大学の Simon Biggs 教授との共同により、表面にグラフトされた PNIPAM をその場で直接観察するための手法として、原子間力顕微鏡 (AFM) による表面観察と、水晶振動子マイクロバランス (QCM) を用いた構造・物性評価を試みた。

AFM は、現在では非常に広く普及し、汎用的な計測機器としての地位を確立した感があるが、その最大の特長はさまざまな環境下で、表面をその場かつ精細に観察できる点である。本研究ではその特長を生かして、水溶液中での高分子グラフト表面のその場観察を行った。この際、表面への探針の接触圧を最小にしながら、コンタクトモードで観察を行う “soft-contact” という手法を用いることで、柔らかい高分子層へのかく乱を極力低減しながら、詳細な観察を行うことが可能である⁹⁾。

QCM は、水晶振動子を共振周波数付近で振動させ、表面に物質が付着するとその質量に応じて振動周波数が変化する (下がる) 性質を利用することで、極微量の質量変化を精密に計測する測定手法である。これに加え、振動を停止させたときの振動減衰率から、基板上でのエネルギー散逸率 (ディシペーション) を測定することで、センサー上に吸着した物質の粘弾性を評価することができる¹⁰⁾。われわれはこの測定法を用い、QCM センサー上に PNIPAM を直接グラフト重合することで、PNIPAM の構造変化とそれに伴う粘弾性変化の情報を抽出することを試みた。

これらの AFM のその場観察と QCM による構造・物

性解析を相補的に行うことで、われわれは表面に固定した PNIPAM の挙動を、ミクロスコピックに直接評価する新たな方法を展開している¹¹⁻¹³⁾。本稿では、これらの研究成果について紹介する。

2 温度による PNIPAM 構造変化の直接観察¹¹⁾

PNIPAM はラジカル重合によりシリコンウェハ表面にグラフト固定し、AFM で水中でのその場観察を行った。QCM は酸化シリコンで被覆したセンサー上に、ウェハとまったく同様のラジカル重合で直接 PNIPAM をグラフトし、液相中で振動周波数 (Δf) およびディシペーション (ΔD) を測定して構造変化の評価を試みた。

Fig. 1 に、水中で観察した PNIPAM グラフト表面の AFM 像を示す。室温から LCST までは表面像は平坦で、表面にわずかな構造形成が認められるものの大きな変化は見られない。しかし、LCST 付近の 32.0°C まで温度を上げると表面像には大きさ 100 nm 程度のドメイン状の構造がいくつも現れ、この構造はさらに温度を上げるとより明瞭になっていくことがわかった。すなわち、これらの観察像は表面上の PNIPAM 鎖が伸展したブラシ状から、凝集したグロビュール状へと構造変化する様子を示しており、シャープな温度範囲での PNIPAM 鎖の相転移が直接観察されている。

Fig. 2 に、温度による AFM プローブと表面の相互作用曲線を示す。相互作用曲線はすべての温度範囲で斥力を示しており、これはプローブと PNIPAM 鎖間に働く立体斥力のためである。温度が上がるにつれ斥力の作用範囲は減少していくが、温度が LCST を超えても相互作用は斥力であり、作用範囲以外に大きな変化は見られない。この相互作用の範囲は変形可能な分子層の厚さを示しているため、この範囲から、PNIPAM 層の見かけ膜厚 (真の膜厚とは異なる) の相対変化を推定することができる。これを温度に対してプロットしたものが Fig. 3 である。AFM 像が LCST 付近で急に変化を見せるのに対し、見かけの膜厚は LCST よりはるかに低い温度から、温度が増加するにつれて徐々に減少し、LCST に近づくにつれその度合いが大きくなっていることがわかる。すなわち、相転移が起こる前であっても、温度の増加とともに PNIPAM 鎖は縦方向に徐々に収縮していくことを示している。しかし、LCST より高い温度では減少の度合いはかなり緩やかになり、相転移後には収縮はあまり起らないことが分かる。これらのことから、基本的な構造変化のメカニズムとして、PNIPAM 鎖は温度の増加とともに、まず主として表面に鉛直な方向に連続的に収縮していき、LCST 付近で急激に横方向に凝集してグロビュール構造を形成するものと考えられる。

Fig. 1 AFM images ($2 \times 2 \mu\text{m}^2$) of a PNIPAM layer on silicon wafer in water.

Fig. 2 Force curves measured between a PNIPAM layer on silicon wafer and probe tip in water at various temperatures.
The zero position of the tip is expediently defined as the starting position of the linear part in raw force data.

Fig. 3 Change in the relative layer thickness by temperature deduced from Fig. 2.

QCMで測定された Δf , ΔD の温度による変化をFig. 4に示す。各点は、平衡になった時点(約30分)での Δf , ΔD の値を示している。点線は、PNIPAMをグラフトしていない裸のセンサーにおけるデータである。これを見ると、PNIPAMをグラフトした表面の Δf にはLCST付近で大きな負のピークが見られ、 ΔD はLCST付近で大きく負にシフトしている。すなわち両者ともLCST付近で大きな変化を示しており、PNIPAMの相転移が明瞭に捉えられていることが分かる。とくに Δf の変化を詳しくみると、その挙動は非常に興味深い。

Fig. 4 The changes in frequency, Δf (a) and dissipation, ΔD (b) depending on temperature for PNIPAM coated crystal in water. The data for the bare crystal is shown as the dashed line.

PNIPAM 自身は固定されており重量は不変だが、温度が上がると脱水和が起こるため、その分だけセンサー上の重量は減少するはずであり、この場合 Δf は正方向にシフトすることになる。しかし実際には、 Δf は温度とともに減少して LCST 付近で負に最大となっており、この範囲で見かけの重量が増加していることを表している。すなわち、この Δf の挙動は、単純なセンサー上の重量変化のみから予測されるものとは正反対であり、重量変化以外の要因が Δf の挙動に影響を与えることを示唆している。

この Δf の挙動の要因として、われわれは PNIPAM の構造変化の影響を考えている。上に述べたように、LCST よりも低い温度から PNIPAM 鎖は縦方向に徐々に収縮する。この収縮がセンサーの振動とともに振動する鎖の部分を大きくし、実効的な重量を増やすことで、 Δf を負にシフトさせる。これが脱水和による正へのシフトに打ち勝って、全体として Δf は負に変化するものと推察される。逆に、LCST より高温では、PNIPAM

の構造変化は少なく、脱水和の影響が顕著となって、 Δf は増加するものと考えられる。また、このように PNIPAM の構造変化が Δf に大きな影響を与える原因としては、ラジカル重合による表面グラフトでは、比較的大きな分子量の高分子鎖が、低グラフト密度で形成されるため、それぞれの PNIPAM 鎖がバルク分子のように振る舞いやすいためではないかと推測される。

一方、 ΔD については、一般に表面上の物質の粘弾性が高くなる（硬くなる）と負にシフトすることが知られている¹⁴⁾。すなわち、LCST 付近での急激な変化は、低い温度で柔軟なブラシ状態であった PNIPAM 鎖が、相転移を経て凝集することで、より硬い構造を形成することをまさに示しているといえる。

3 電解質水溶液中での構造変化¹²⁾

バルクでの PNIPAM の相転移は、水溶液中の電解質の存在によっても影響を受け、電解質の濃度や種類によって LCST が変化することが知られている¹⁵⁾。また、電解質によって相転移を誘起する能力は、主としてアニオンの種類によって左右されることが見出されている。そこで、表面にグラフトした PNIPAM の電解質による相転移の状態を観察するため、バルクの高分子において高い相転移誘起能を持つことが見出されている硫酸ナトリウム水溶液中で、PNIPAM グラフト表面の AFM 観察および QCM 測定を行った。

硫酸ナトリウム濃度を変化させていくと、AFM 像は Fig. 5 に示すように、バルク中の PNIPAM が相転移を示す濃度¹⁶⁾に近い、0.11~0.12 M 付近でのわずかな濃度変化において相転移を示し、水中で温度を変化させた場合と同様のドメイン構造が観察された。QCM のデータ (Fig. 6) についても、 Δf はこの濃度付近で負に最大となるとともに、 ΔD は負に大きくシフトしており、濃度変化に対して、水中で温度を上げていくのと同様の挙動を示す。すなわち電解質の添加によって、水中で温度を上げるのと同じく PNIPAM 鎖は脱水和し、相転移が誘起されることがわかった。

この系では、構造変化が起こる様子を時間経過によって動的に観察することができる。Fig. 7 に相転移濃度よりもほんの少し低い 0.11 M での AFM 観察像を示すが、時間が経つにつれて平坦な像にドメイン構造が徐々に現れていき、30 分近くで像が変化しなくなっている様子がわかる。すなわち、相転移点付近の濃度においては PNIPAM 鎖が不安定な状態になり、徐々に凝集が起こっていくことが観察されている。これは QCM のデータの時間変化 (Fig. 8) にも反映されており、0.11 M において Δf が平衡に達するまでの時間が、AFM 像の変化の

Fig. 5 AFM images ($2 \times 2 \mu\text{m}^2$) of a PNIPAM layer on silicon wafer in Na_2SO_4 solutions. All images were obtained after the equilibration at least 30 min.

Fig. 6 The changes in Δf (a) and ΔD (b) as a function of Na_2SO_4 concentration for PNIPAM coated crystal in water. The data for the bare crystal is shown as the dashed line.

時間範囲とほぼ同じく、約 30 分となっている。つまり、この濃度では脱水和や構造変化が緩やかに起こっていることが QCM データにも表れている。興味深いことに、これよりわずかに低い濃度の 0.1 M においては、0.11 M の場合とまったく異なり、平衡に達する時間は非常に短い。このデータは相転移付近のわずかな濃度変化によって、PNIPAM の動的な挙動が大きく変わることを示すものである。これとは対照的に、1 M では Δf は 3 分程度で平衡に達しており、構造変化が非常に短時間で起こることを示している。すなわち高い電解質濃度においては、濃度変化に対して構造が鋭敏に変化することがわかる。

4 グラフト密度の影響¹³⁾

さらに、PNIPAM の基板上へのグラフト密度が相転移に与える影響についても検討した。この検討においては、鎖長はまったく一緒でも異なるグラフト密度を持つ表面を調製するため、精密な合成が可能である原子移動ラジカル重合(ATRP)法により PNIPAM 鎖を生成した。まずシランカップリング剤の混合吸着により、シリコンウェハ表面における反応開始点となる官能基の密度を変化させ、そこに表面開始 ATRP により PNIPAM をグラフトすることで、3 つの異なるグラフト密度をもつ PNIPAM 表面を作製し、前項までと同様の実験を行った。

Fig. 9 に AFM で観察した表面の温度変化を示すが、PNIPAM の構造変化の様子は 3 種類のグラフト密度によって明らかに異なっている。最も低いグラフト密度の

Fig. 7 AFM images ($2 \times 2 \mu\text{m}^2$) of a PNIPAM layer on silicon wafer in of 0.11 M Na_2SO_4 solution. Image was taken at 3, 16, 28 and 35 min after the injection of the solution into AFM fluid cell.

Fig. 8 The changes in the values of $-\Delta f$ obtained in 0.1, 0.11 and 1.0 M Na_2SO_4 solutions as a function of time.

表面は、前項までに用いられた表面と近いグラフト密度を有しているため、2で示した結果と同様に、LCST付近で平坦な像からドメイン状の構造に急激かつ不連続に相転移が起こっている。しかし、グラフト密度が高くなるにつれ、LCSTより低い温度でもグラフト鎖の凝集が見られるようになり、構造変化が広い温度範囲で徐々に、連続的に起こっていることが観察される。

QCM データについても、グラフト密度によってその変化の様相は大きく異なっている。 Δf はグラフト密度が低いときには、2の結果と同様にLCST付近で負のピークをとるが、グラフト密度が高くなるにつれ、このピークは消滅してゆき、最も高いグラフト密度では、温度の増加とともにほぼ単調に増加しているのみである (Fig. 10 (a))。これは、PNIPAM 鎖の密度が高くなることで、脱水和により放出される水の量がかなり大きくなって、 Δf を負の方向に変化させる要因である、構造変化の効果が打ち消されてしまうことが原因であると考えられる。また、 ΔD の変化 (Fig. 10 (b)) はLCST付近の負

Fig. 9 AFM images ($1 \times 1 \mu\text{m}^2$) of PNIPAM layers with three different grafting densities on silicon wafer in water.

Fig. 10 The changes in Δf (a) and ΔD (b) depending on temperature for PNIPAM coated crystal in water for three different grafting densities. The insets show the detailed behavior of the data for the low and middle density surfaces on enlarged scales.

へのシフトが、グラフト密度の増加に伴って、より低い温度から連続的に起こるようになっており、これはAFMの観察結果とよく一致している。硫酸ナトリウム水溶液中で観察を行った場合においても、これらと同様の傾向が確認された。すなわち、グラフト密度の増加によって、相転移はより連続的に、通常の相転移点よりはるかに低い温度や電解質濃度から緩やかに起こることが示された。

このようにグラフト密度が相転移に影響を及ぼす理由としては、グラフト密度が高くなると、PNIPAM鎖が伸びた状態を取らざるを得ず、自由エネルギー的に不利な状態にあるため、少しの環境変化で凝集状態を取りやすくなること、またグラフト密度が高くなると、PNIPAM鎖間の距離が近くなるため、鎖間の水素結合形成による凝集が低い温度でも起こりやすくなることが考えられる。いずれにしろこれらの結果は、材料設計において高分子構造変化の程度や、その温度応答性を制御していくうえで、グラフト密度が重要な因子の一つであるこ

とを示しているといえる。

5 おわりに

本研究では、AFMとQCMを用いた測定により、固体表面に固定したPNIPAMの構造や相転移の評価が可能であることを示した。この方法は、PNIPAMのみならず、表面にグラフトされた高分子の環境による動的な構造変化を直接的に観察・評価するための手段として、広くに用いることができると期待される。また、構造変化の解析を詳細に行うことで、逆に刺激応答性の高分子グラフト表面の構造制御を行っていくことも可能であろう。このようなアプローチが、新たな構造や機能を持つ材料の開発に幅広く応用されることを期待したい。

謝 辞

冒頭に述べたように、本研究は英国リーズ大学工学研究科のSimon Biggs教授との共同で行われたものであり、この場を借りてBiggs教授へ心から感謝の意を表したい。また、本研究の一部は日本学術振興会・先端研究拠点事業「先進微粒子ハンドリング科学」(課題番号18004)の支援により行われた。

最後に、このたびこの栄誉あるオレオマテリアル賞を授与していただき、オレオマテリアル部会ならびに関係の先生方に心より御礼申し上げます。またこの総説を執筆する機会を設けていただいたことに深く感謝いたします。

文 献

- 1) M. Heskins & J. E. Guillet, *J. Macromol. Sci. Chem.*, **A2**, 1441-55 (1968).
- 2) Y. S. Park, Y. Ito & Y. Imanishi, *Langmuir*, **14**, 910-4 (1998).
- 3) J. Kobayashi, A. Kikuchi, K. Sakai & T. Okano, *Anal. Chem.*, **73**, 2027-33 (2001).
- 4) D. Cunliffe, C. D. Alarcon, V. Peters, J. R. Smith & C. Alexander, *Langmuir*, **19**, 2888-99 (2003).
- 5) W. Leobandung, H. Ichikawa, Y. Fukumori & N.A. Peppas, *J. Appl. Polym. Sci.*, **87**, 1678-84 (2003).
- 6) P. W. Zhu & D. H. Napper, *J. Chem. Phys.*, **106**, 6492-8 (1997).
- 7) S. Balamurugan, S. Mendez, S. S. Balamurugan, M. J. O'Brien II & G. P. Lopez, *Langmuir*, **19**, 2545-9 (2003).
- 8) H. Yim, M. S. Kent, S. Mendez, G. P. Lopez, S. Satija & Y. Seo, *Macromolecules*, **39**, 3420-6 (2006).
- 9) S. Manne, J. P. Cleveland, H. E. Gaub, G. D. Stucky, & P. K. Hansma, *Langmuir*, **10**, 4409-13 (1994).
- 10) M. Rodahl, F. Höök, A. Krozer, P. Brzezinski & B. Kasemo, *Rev. Sci. Instrum.*, **66**, 3924-30 (1995).
- 11) N. Ishida & S. Biggs, *Langmuir*, **23**, 11083-8 (2007).
- 12) N. Ishida & S. Biggs, *Macromolecules*, **40**, 9045-52

- (2007).
- 13) N. Ishida & S. Biggs, *Macromolecules*, **43**, 7269-76 (2010).
- 14) F. Höök, B. Kasemo, T. Nylander, C. Fant, K. Sott & H. Elwing, *Anal. Chem.*, **73**, 5796-804 (2001).
- 15) T. G. Park & A. S. Hoffman, *Macromolecules*, **26**, 5045-8 (1993).
- 16) H. G. Schild & D. A. Tirrell, *J. Phys. Chem.*, **94**, 4352-6 (1990).