

## 回折 X 線明滅法を用いた劣化ポリマーの内部動態計測

坂口正紀<sup>1</sup>, 新井達也<sup>1</sup>, 引田理英<sup>2</sup>, 三尾和弘<sup>3</sup>, 佐々木裕次<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 東京大学大学院新領域創成科学研究科, <sup>2</sup> 高エネルギー加速器研究機構, <sup>3</sup> 産業技術総合研究所

### Internal motion of degraded polymers observed with diffracted X-ray blinking

Masaki SAKAGUCHI<sup>1</sup>, Tatsuya ARAI<sup>1</sup>, Masahide HIKITA<sup>2</sup>, Kazuhiro MIO<sup>3</sup>, Yuji C. SASAKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Graduate School of Frontier Sciences, The university of Tokyo, <sup>2</sup> High Energy Accelerator Research Organization,

<sup>3</sup> National Institute of Advanced Industrial Science and Technology

#### Abstract

ポリマーは軽く、加工がしやすいため様々な用途で用いられているものの、熱や光で劣化しやすい欠点があり、耐久性の良いポリマー開発に向けて劣化を評価する手法が求められている。これまでポリマーの劣化評価にはフーリエ変換赤外分光法 (FT-IR) や引張試験などが用いられてきたが、汎用的な手法は未だに確立されていない。本研究では、タンパク質分子の運動を評価する回折 X 線明滅法 (Diffracted X-ray Blinking: DXB) をポリマーに適用し、劣化を内部動態変化として評価できるのではないかと考え実測した。ポリマー中に酸化亜鉛のナノ粒子を分散させ、ポリマーと連動する酸化亜鉛を DXB によって計測することでポリマーの内部動態を間接的に見積もった。DXB 計測の結果、ポリマーを熱処理することで運動の大きさを示す指標となる減衰係数が増加し、運動が増大することがわかった。劣化による分子鎖の切断反応に起因した運動性の上昇を DXB で捉えることに成功した。

#### 1. はじめに

ポリマーは軽量で衝撃に強く、加工が容易なためさまざまな製品に使用されている一方、熱や光によって分解されやすいという欠点がある [1, 2]。そのため、耐久性の良いポリマー開発に向けた汎用的な劣化解析法が求められている。

現在使用されているポリマーの劣化解析法として、フーリエ変換赤外分光法 (FT-IR) が挙げられる。FT-IR は赤外光を試料に照射し、干渉パターンをフーリエ変換することで赤外吸収スペクトルを取得し、分子構造を同定する手法である。劣化が起きた際の官能基の変化を定量的に検出することが可能であるが [3-5]、試料の極表面を対象としており汚れなどの付着物により別の官能基が検出されてしまう可能性がある。他にも、構造ではなく物性の変化から劣化を解析する手法もある。例えば、引張試験は試料が破断するまで張力をかけ、試料の引張強度、応力、降伏点などの機械的性質を測定する試験である。劣化時の試料の引張強度変化から劣化を定量的に解析することができる [6,7]。引張試験は試料表面の付着物の影響を受けることはないが、試料の厚みが均一である必要がある。また、引張試験機の正確な位置に試料をセットする必要があり測定誤差が発生しやすいという欠点がある。他にも示差走査熱量測定 (DSC) やゲルろ過クロマトグラフィー (GPC) などが使用されており [8-10]、構造、力学特性、分子量分布といった様々な観点で劣化評価がなされている。

ポリマーの劣化解析法をいくつか挙げたが、加硫促進剤

を多く含むゴムの場合には引張試験が有効であり、カルボニル基の発生など化学構造の変化が見られる場合は FT-IR が有効である。このようにポリマー種や添加物、分解要因によって解析法を使い分ける必要があり、あらゆるポリマーの劣化を解析できる汎用的な手法は開発されていない。

本研究ではタンパク質 1 分子の内部動態を評価する回折 X 線明滅法 (Diffracted X-ray Blinking: DXB) をポリマーに適用し、劣化を内部動態変化として簡便かつ正確に評価できる手法の開発を目指した。本研究では、ポリマーとして広く研究がなされているポリエチレングリコールに、安価で結晶性の良い酸化亜鉛のナノ粒子を混合したものを標準サンプルとして使用した。本サンプルを用いて、劣化したポリマーの内部動態変化に加えて動態の温度依存性についても報告する。

#### 2. 実験方法

##### 2-1. サンプル調製

測定サンプルとしてポリエチレングリコール 3350 (PEG 3350, Sigma-Aldrich) を用いた。PEG 3350 を 80°C で 10 時間加熱し熱劣化サンプルとした。また、未処理の PEG 3350 を 80°C で 10 分間加熱し、熔融状態の両サンプル 1 mL に酸化亜鉛 (ZnO (φ: 0.2-1 μm), 高純度化学研究所) を 5 mg ずつ加えた。ZnO を分散させるために 10 分間超音波処理を行い、カプトンチューブ (φ: 2 mm) に入れ DXB 計測を行った。

## 2-2. 回折 X 線明滅法 (DXB)

回折 X 線明滅法 (DXB) は 2018 年に佐々木らによって開発された [11]。DXB では金ナノ結晶をタンパク質分子にラベルし、金ナノ結晶の X 線回折輝点の揺らぎからタンパク質の内部動態を時分割評価する。DXB の原理について、もう少し詳しく説明する。結晶に X 線を照射すると、結晶に由来する回折輝点が得られる。回折輝点はブラッグの式 ( $2d\sin\theta = n\lambda$ ) を満たすときにのみ現れるため、結晶が回転運動をすると輝点の明滅が起こる。DXB ではこの回折輝点の明滅を時分割解析する。まず、1 ピクセルの回折強度変化から以下の式で表される自己相関関数 (ACF) を求める。

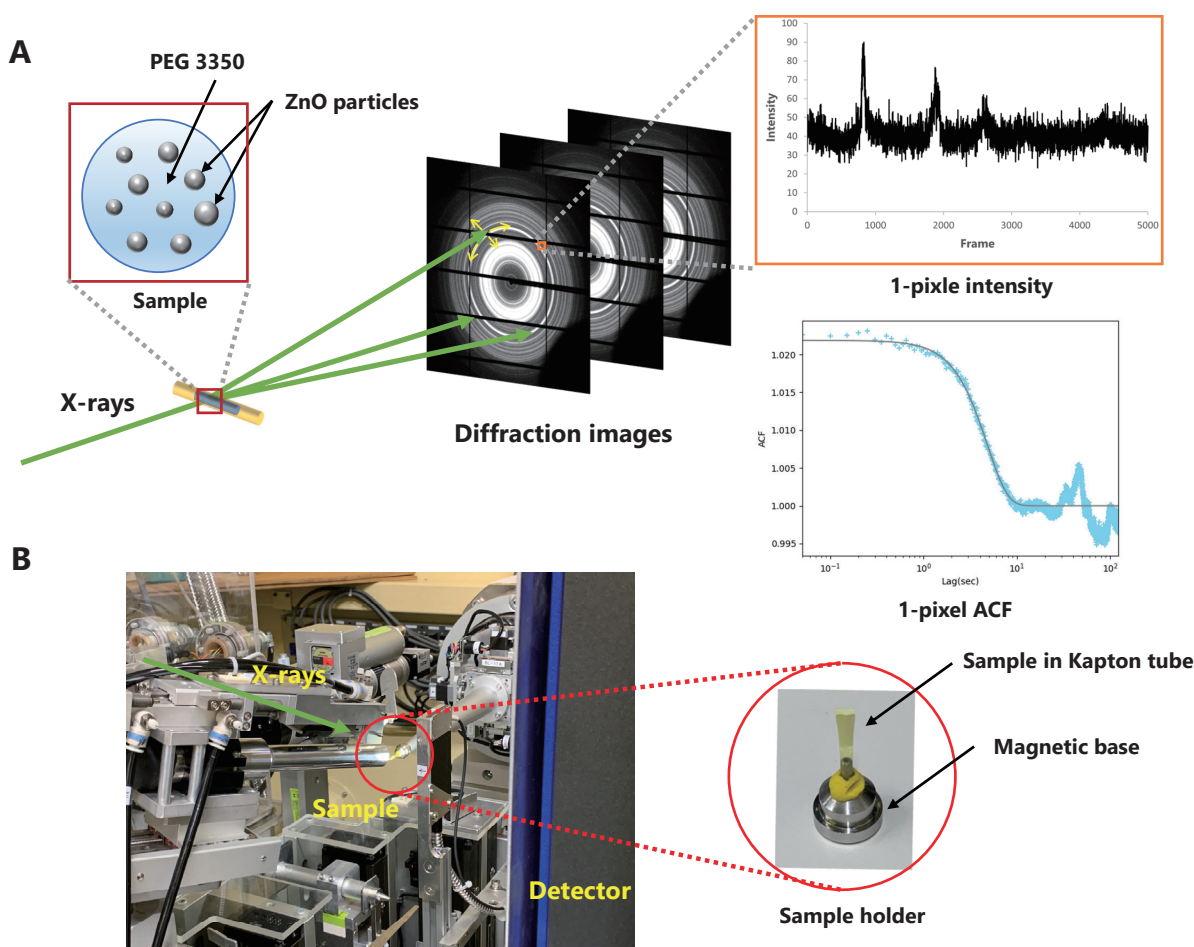
$$G(\tau) = 1 + \frac{\langle \Delta I(t) * \Delta I(t + \tau) \rangle}{\langle I(t) \rangle^2}$$

ここで、 $I(t)$  は回折強度の時間関数、 $\langle I(t) \rangle$  は全時間に対する平均、 $\Delta I(t) = I(t) - \langle I(t) \rangle$  である。ACF は  $\tau$  だけ時間をシフトさせた際、シフトさせる前とどれだけ強度の相関が残っているかを表している。次に、得られた ACF に対して以下の式で指数関数でのフィッティング曲線を求める。

$$ACF(t) = Y + A \exp(-T * t)$$

ここで、 $Y$  は ACF の収束値、 $A$  は振幅、 $T$  は物質の運動の指標となる減衰係数 (decay constant (/s)) である。粒子が高速に回転運動をすると、回折強度は速く揺らぎ ACF の減衰も早くなるため、減衰係数の値は大きくなる。今回、DXB をポリマーに適用するためにナノ粒子プローブとして酸化亜鉛をポリマー中に分散させる手法を考案した。

Fig. 1 に本研究における DXB 計測の概要を示す。PEG 3350 の分子運動により回転運動をする酸化亜鉛粒子に対して DXB 解析を行うことで、PEG 3350 の動態を間接的に求めている。本実験は PF-AR NW12A にて行った。PEG 3350 + ZnO サンプルに対して室温で X 線 (波長: 1 Å) を照射し、ピクセルアレイ型検出器 PILATUS3 S2M (DECTRIS) を用いて 50 ms/frame の時間分解能で回折画像を 5000 枚取得した。得られた画像に対し DXB 解析を行った。また、同サンプルに対し 295, 245, 195, 145 K の 4 点で DXB 計測を行った。

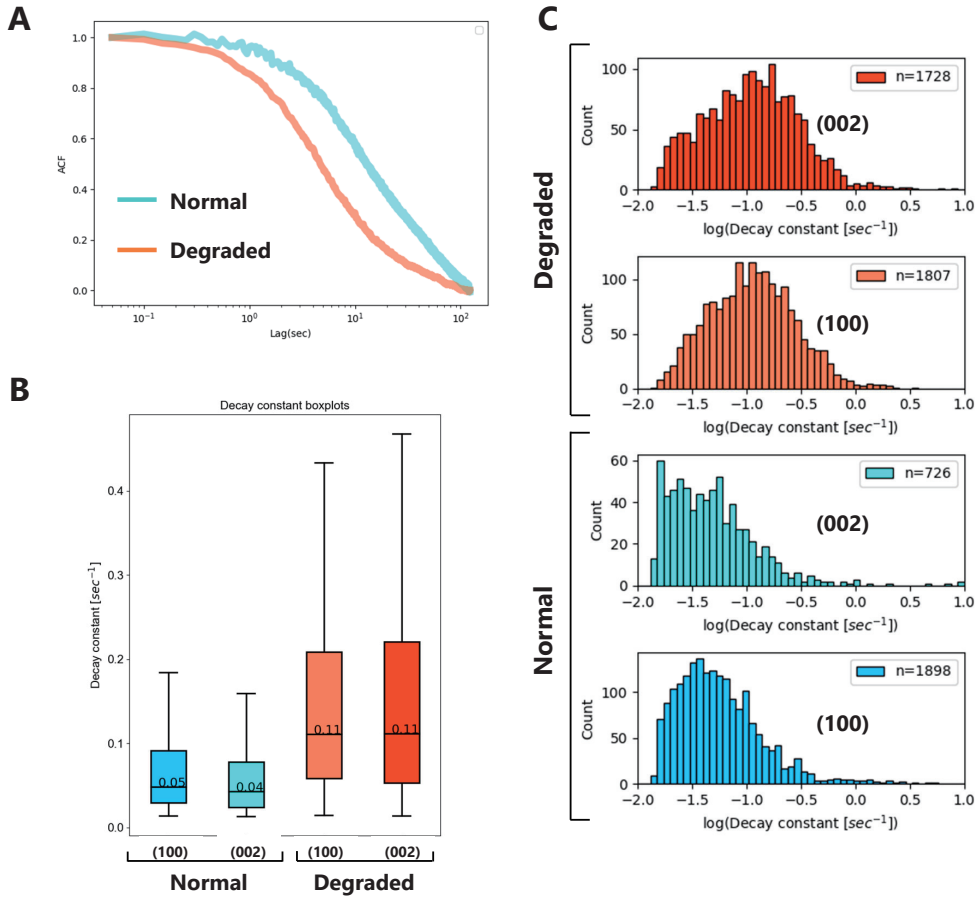


**Figure 1** (A) Conceptual diagram of DXB method for polymers. In the polymer DXB method, the sample containing crystallite particles is exposed to monochromatic X-rays, and its time-resolved diffraction images are recorded with a two-dimensional detector. The intensity fluctuation of each pixel is analyzed with ACF. (B) Photographs of experimental setup @ AR-NW12A beamline in KEK.

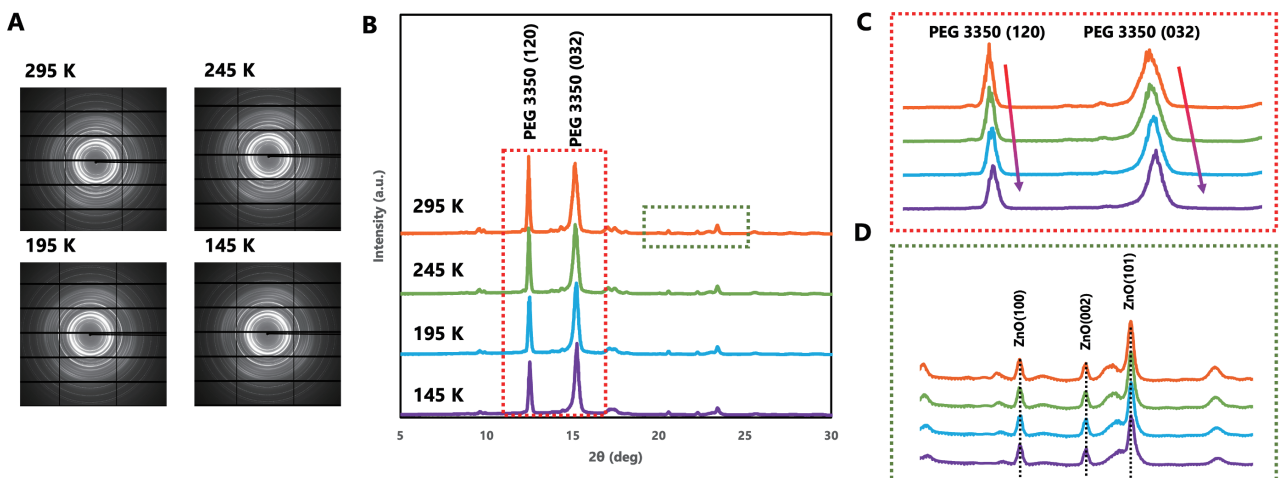
### 3. 実験結果

Fig. 2 に熱処理前後での PEG 3350 の DXB 解析結果を示す。Fig. 2A は、酸化亜鉛 (100) 面の全ピクセルの平均化 ACF カーブである。熱劣化後のサンプルは、未処理のものと比較して ACF カーブが明確に早く減衰した。運動の

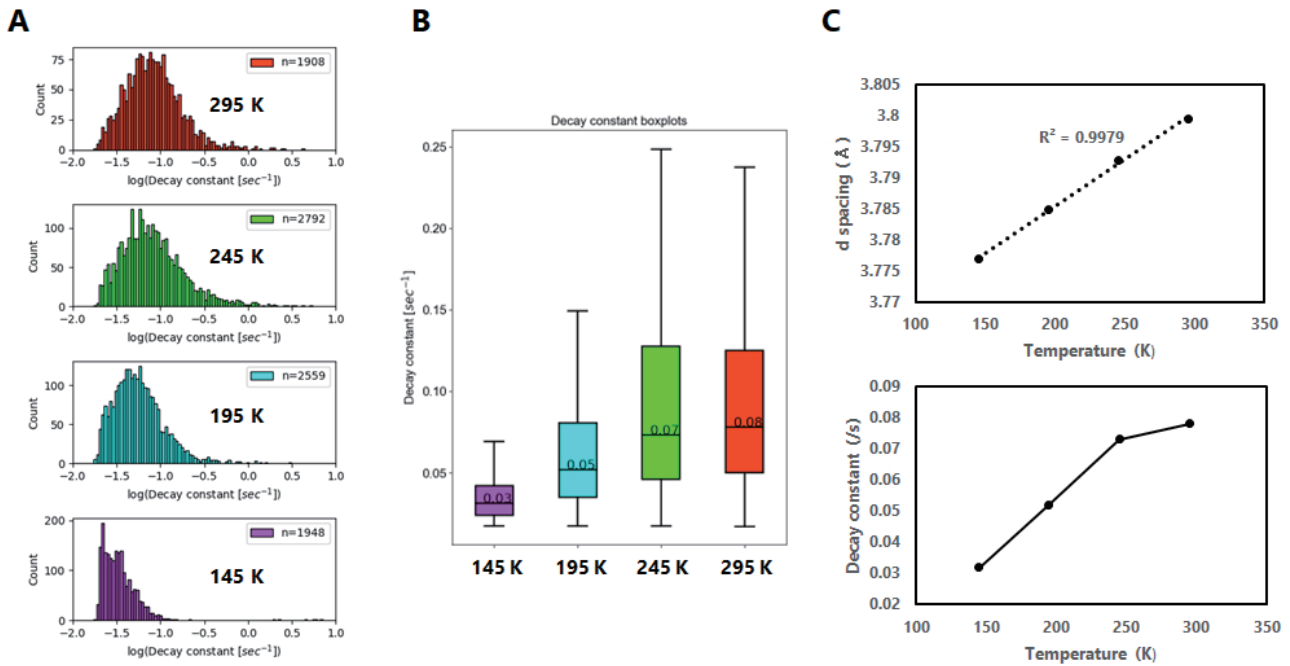
速さを示す減衰係数の中央値は、約 0.05 (/s) から 0.11 (/s) へと 2 倍以上になっている (Fig. 2B)。減衰係数の分布を表したヒストグラム (Fig. 2C) より、熱劣化後には減衰係数が高運動側にシフトしており、運動が大きく増大したことがわかる。一般的に PEG では熱劣化により分子量が小



**Figure 2** (A) Normalized Averaged ACF curves of all pixels of (100) planes of ZnO at room temperature. (B) Boxplots of decay constants for all pixels of (100) and (002) planes of ZnO. Median value is shown on the center of box. (C) Histograms showing the distribution of decay constants in logarithmic scale.



**Figure 3** (A) Diffraction images of degraded PEG 3350 + ZnO at each temperature. (B) Converted 1D XRD patterns of (A). (C) Enlarged XRD image around (120) and (032) peaks of PEG 3350. The peaks shift to the higher angle with decreasing the temperature. (D) Enlarged XRD image around (100), (002) and (101) peaks of ZnO.



**Figure 4** (A) Histograms showing the distribution of decay constants of ZnO (100) and (002) planes in logarithmic scale. (B) Boxplots of decay constants for all pixels. (C) Temperature dependence of d spacing of PEG 3350 (032) plane and decay constants of ZnO.

さくなくなることがわかっている [12, 13]。加熱により分子鎖の切断反応が起こった結果、低分子量の分子鎖の増加により分子鎖間の拘束が解かれ運動が増大したと考えられる。

次に、熱劣化した PEG 3350 に対して異なる温度で内部動態を計測した。Fig. 3 に 295, 245, 195, 145 K での回折画像と回折パターンを示した。ZnO の回折パターンに変化がないのに対し、PEG 3350 の回折パターンは温度を下げるにつれてピークの位置が広角側にシフトしている (Fig. 3B, C, D)。格子面間隔が狭い ZnO に対し、広い PEG 3350 では XRD によって温度の低下とともに格子面間隔が収縮する様子が確認できた。実際、ブラッグの式から各温度での PEG 3350 (032) 面の格子面間隔を求め、温度に対してプロットすると直線状となった (Fig. 4C 上)。同様に、減衰係数の値も温度の低下とともに減少しており (Fig. 4A, B)、内部動態の温度依存性が確認できるが、295-245 K では 245-145 K と比べて減衰係数の変動が少なかった (Fig. 4C 下)。PEG 3350 は 250 K 付近にガラス転移点を有している。最近の研究で、ガラス転移点付近でポリマー中のナノ粒子の拡散運動が超拡散的になることが報告されている [14, 15]。ガラス転移点付近でわずかに運動が増大したため、295-245 K では減衰係数の値にあまり変化がなかったと考えられる。

#### 4. まとめ

本研究では汎用的なポリマーの劣化解析法の開発を目指し、DXB を PEG 3350 に適用した。計測の結果、熱劣化した PEG 3350 では運動の大きさを示す減衰係数が増大し、熱処理によって運動が速くなったことが示された。熱によ

り分子鎖が切断され低分子量の分子が増えた結果、分子鎖間の拘束が解かれ運動が増大したと考えられる。また、PEG 3350 の内部動態の温度依存性についても調べた。温度の低下とともに運動が減少し、回折画像では判断しづらい微細な変化を内部動態変化として DXB で捉えることができた。今回、PEG 3350 にナノ粒子プローブとして ZnO をラベルしたが、ナノ粒子を元から含むようなゴムやプラスチックであればラベル作業なしで測定可能であり、多様な材料の劣化評価手法として広く応用可能である。

#### 謝辞

本研究で実施した放射光実験は PF-AR の共同利用実験課題 (課題番号: 2021G576) で行われた。PF-AR スタッフの皆様には深く御礼申し上げます。

#### 引用文献

- [1] Y. Takeoka, S. Liu, and F. Asai, *Sci Technol Adv Mater* **21**, 817 (2020).
- [2] R. Geyer, J. R. Jambeck, and K. L. Law, *Sci Adv.* **3**, e1700782 (2017).
- [3] M. R. Jung, F. D. Horgen, S. V. Orski, C. V. Rodriguez, K. L. Beers, G. H. Balazs, T. T. Jones, T. M. Work, K. C. Brignac, S-J. Royer, K. D. Hyrenbach, B. A. Jensen, and J. M. Lynch, *Mar Pollut Bull* **127**, 704 (2018).
- [4] G. I. Mathys and V-T. Truong, *Synth Met.* **89**, 103 (1997).
- [5] C. H. Do, E. M. Pearce, B. J. Bulkin, and H. K. Reimschuessel, *J Polym Sci A Polym Chem.* **25**, 2409 (1987).

- [6] L. F. Rivas, S. A. Casarin, N. C. Nepomuceno, M. I. Alencar, J. A. M. Agnelli, E. S. de Medeiros, N. A. de O. Wanderley, M. P. de Oliveira, A. M. de Medeiros, and A. S. F. e Santos, *Polimeros* **27**, 122 (2017).
- [7] H. Ohtsuka, *Zairyo-to-Kankyo* **43**, 340 (1994).
- [8] K. Nakayama, T. Watanabe, Y. Ohtake, and M. Furukawa, *Nippon Gomu Kyokaishi* **81**, 467 (2008).
- [9] K. Nakayama, T. Watanabe, Y. Ohtake, and M. Furukawa, *Nippon Gomu Kyokaishi* **81**, 447 (2008).
- [10] C. A. Santos, B. D. Freedman, K. J. Leach, D. L. Press, M. Scarpulla, and E. Mathiowitz, *Journal of Controlled Release* **60**, 11 (1999).
- [11] H. Sekiguchi, M. Kuramochi, K. Ikezaki, Y. Okamura, K. Yoshimura, K. Matsubara, J-W. Chang, N. Ohta, T. Kubo, K. Mio, Y. Suzuki, L. M. G. Chavas, and Y. C. Sasaki, *Sci Rep.* **8**, 17090 (2018).
- [12] S. Han, C. Kim, and D. Kwon, *Polym Degrad Stab.* **47**, 203 (1995).
- [13] S. Han, C. Kim, and D. Kwon, *Polymer (Guildf)* **38**, 317 (1997).
- [14] T. Hoshino, D. Murakami, Y. Tanaka, M. Takata, H. Jinnai, and A. Takahara, *Phys Rev. E* **88**, 032602 (2013).
- [15] H. Guo, G. Bourret, M. K. Corbierre, S. Rucareanu, R. B. Lennox, K. Laaziri, L. Piche, M. Sutton, J. L. Harden, and R. L. Leheny, *Phys Rev Lett.* **102**, 075702 (2009).

(原稿受付日：2023年6月17日)

## 著者紹介

坂口正紀 Masaki SAKAGUCHI



東京大学大学院 新領域創成科学研究科  
物質系専攻 修士課程2年

〒277-8561 千葉県柏市柏の葉 5-1-5 基  
盤棟 609 (7H8 号室)

e-mail : 8507367711@edu.k.u-tokyo.ac.jp

略歴：2022年東京理科大学理学部第一  
部化学科卒業，2022年東京大学大学院

新領域創成科学研究科物質系専攻入学。

最近の研究：X線を用いた劣化高分子の運動解析。

趣味：テレビ，映画，テレビゲーム。

新井達也 Tatsuya ARAI



東京大学大学院 新領域創成科学研究科  
物質系専攻 助教

〒277-8561 千葉県柏市柏の葉 5-1-5 基  
盤棟 609 (7H8 号室)

e-mail : t.arai@edu.k.u-tokyo.ac.jp

略歴：2019年北海道大学生命科学院博  
士課程修了（生命科学博士）。

最近の研究：X線を用いた高分子材料の運動解析，不凍タンパク質の構造機能解析。

趣味：お酒，旅行。

三尾和弘 Kazuhiro MIO



産業技術総合研究所 先端オペランド計  
測技術オープンイノベーションラボラ  
トリ ラボチーム長

〒277-0882 千葉県柏市柏の葉 6-2-3

TEL : 03-3599-8104

e-mail : kazu.mio@aist.go.jp

略歴：1990年東北大学大学院理学研究

科動物発生学博士課程前期修了，博士（理学）。ライオン株式会社研究員，UCSF 訪問研究員を経て2009年4月より産業技術総合研究所。

研究テーマ：電子顕微鏡構造解析，X線分子運動解析。

趣味：島キャンプ。子供たちを山海留学に出している吐噶喇列島でハマりました。

佐々木裕次 Yuji C. SASAKI



東京大学大学院 新領域創成科学研究科  
物質系専攻 教授

〒277-8561 千葉県柏市柏の葉 5-1-5 基  
盤棟 609 (7H8 号室)

e-mail : ycsasaki@edu.k.u-tokyo.ac.jp

略歴：1991年東北大学大学院工学研究  
科博士課程修了（工学博士）。

最近の研究：X線，電子線，そして中性子を用いた新規1分子計測法の考案と学融合研究。

趣味：メジャー雑誌に投稿して落ちまくること，科学啓蒙活動及び執筆。