

鹼性胺基酸改質氧化鐵奈米粒子

*吳明立¹, 柳政豪²

南台科技大學生物科技系

*¹mingli@mail.stut.edu.tw, ²hao1231@msn.com

摘要

本研究在25°C及不同的pH條件下，以鹼性胺基酸改質氧化鐵奈米粒子，並探討這些粒子對質體的吸附性質。TEM分析顯示改質前後並未改變粒子之粒徑大小，且這些官能化的粒子之磁性呈現超順磁現象，在水溶液中亦有極佳的分散性。在兩種改質條件下(pH 3.6及pH 10.5)，鹼性胺基酸改質後的粒子之界面電位都比改質前的粒子提高，顯示胺基酸分子已有效地改變粒子的特性。又，經由界面電位及熱重量分析可確認，不同的胺基酸種類與不同的改質條件會導致胺基酸的吸附方式與吸附量不同。熱重量分析數據證明，鹼性改質條件下(pH 10.5)，胺基酸分子僅以物理吸附方式吸附在粒子表面，而酸性改質條件下(pH 3.6)，胺基酸分子可以是化學吸附方式吸附在粒子表面。無論如何，粒子的界面電位越正值，對質體(plasmids)的吸附效率越高；此外，每一種粒子對質體的吸附模式皆符合蘭革牟等溫吸附(Langmuir isotherm)，各種粒子對質體的吸附效率比較如下：pH3.6/Fe₃O₄-arginine > pH3.6/Fe₃O₄-histidine > pH3.6/Fe₃O₄-lysine > pH10.5/Fe₃O₄-arginine > pH10.5/Fe₃O₄-histidine > pH10.5/Fe₃O₄-lysine > unmodified Fe₃O₄。

關鍵詞：氧化鐵奈米粒子、改質、鹼性胺基酸、吸附、質體

Modification of Iron Oxide Nanoparticles with Basic Amino Acids

*Ming-Li Wu, Chen-Hao Liu

Department of Biotechnology, Southern Taiwan University

Abstract

In this report, modification of iron oxide nanoparticles with basic amino acids in an aqueous solution with controlled pH at 25°C and their adsorption property of plasmid were reported. TEM analyses showed that the size of the modified nanoparticles was same as the unmodified nanoparticles. These functionalized nanoparticles had a superparamagnetic property and could be re-dispersed well in aqueous media. In both of modified condition (pH 3.6 and pH 10.5), the values of zeta potential of the modified nanoparticles were more positive than that of unmodified nanoparticles. This phenomenon revealed an effective change of the particle properties after the modification of nanoparticles. In addition, we also confirmed from Zeta potential and TGA analyses that both the modified conditions and various basic amino acids could affect the adsorption type and the adsorption amount of basic amino acids. The TGA data proved that amino acids were adsorbed physically on the particle surface under the modified condition of pH 10.5 and chemisorptions occurred when the modified condition was pH 3.6. However, introducing basic amino acids onto the particle surfaces led to more positive of zeta potential and hence increased the efficiency of plasmid binding. In addition, the behavior of their adsorption of plasmid was in agreement with Langmuir isotherm. Comparing the efficiencies of their adsorption of plasmids, the order was pH3.6/Fe₃O₄-arginine > pH3.6/Fe₃O₄-histidine > pH3.6/Fe₃O₄-lysine > pH10.5/Fe₃O₄-arginine > pH10.5/Fe₃O₄-histidine > pH10.5/Fe₃O₄-lysine > unmodified Fe₃O₄.

Keywords: Iron Oxide Nanoparticles, Modification, Basic Amino Acids, Adsorption, Plasmids

Received: November 11, 2010; accepted: March 2011.

*Corresponding author: M.-L. Wu



壹、前言

奈米材料在生醫及生化上的用途與日俱增，從基礎的分子生物與細胞學研究，到應用性的醫學檢驗、控制釋放投藥與生物合成程序等都可以找到很多應用實例，尤其超順磁性奈米粒子結合吸附原理，應用於醫療、細胞分離、蛋白質及基因的純化、酵素固定化技術等方面已取得一些成果[1-7]。

由於所製備出來的磁性奈米粒子在某些條件下可能會有凝集的現象，且磁性奈米粒子在生醫上的應用需考慮生物相容性和穩定性才能具有價值及廣泛性的應用，所以藉由對氧化鐵奈米粒子進行表面修飾，使其可以達到：(1)改善粒子的分散性；(2)使粒子具有新的物理、化學、光學、磁性、電學等性質；(3)改善粒子與物質之間的相容性等目的。一般而言，對於奈米粒子修飾的方法有很多，簡述如下：

一、以有機物質修飾奈米粒子表面

此法可以直接吸附或是共價鍵結的方式對粒子表面進行改質，便能將粒子由親水改質成親油之粒子，使易於分散在有機溶劑中[8, 9]。

二、以無機物質修飾奈米粒子表面

此法是將粒子表面先接上官能基再以無機改質劑(前趨物)與奈米粒子表面官能基進行鍵結反應而得之，可以使粒子具有新的性質如光學、磁性、電性等[10, 11]。

三、以生物分子改質奈米粒子表面

因為生物分子的辨識性很高，可應用於免疫分析、生物標識以及生化分離上。此法需先將粒子表面改質成能與生物體相容的條件下，再與 DNA 或蛋白質鍵結，形成具有生物相容性的奈米粒子[12, 13]。

四、其他方法修飾粒子表面

Homola 等人[14]利用 $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 粒子的等電點約在 pH 6，而 SiO_2 的等電點約在 pH=2，控制 pH 3~5 時， $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ 粒子可包覆一層 SiO_2 ，並因此增加粒子廣泛 pH 範圍的穩定度。Caruso 等人[15]主要是利用靜電作用力來增加殼層的厚度，以 PS 為核心，吸附電解質後再吸附 Fe_3O_4 奈米粒子與 SiO_2 ，最後再將合成出來的粒子鍛燒之，使其成為中空的膠囊，可應用於藥物保存、傳遞、藥性的延緩作用。

由於氧化鐵奈米粒子具有高的機械性、熱穩定性與化學穩定性，且奈米尺寸的粒子提供巨大的表面積，一但粒子表面修飾適當的官能基，即可高效率地吸附標的物質；又，粒徑 20 nm 以下之氧化鐵奈米粒子的磁矩受熱能之干擾，在常溫下呈現超順磁性，並能有效回應外加磁場之作用，當移除外加磁場後，粒子立即恢復絕佳的分散性，因此，氧化鐵奈米粒子在分離程序的應用頗具潛力，若用於酵素固定化則易使酵素分離再利用。

已有很多研究者探索表面官能化之磁珠(magnetic beads)在分離純化上的應用，然而這些磁珠通常是高分子基材包覆許多磁性奈米粒子而成的複合粒子，導致其粒徑通常達到微米級以上，比表面積不高，因此可以用來吸附的表面積受到限制；有鑑於此，可利用二種方法來增加吸附面積，其一減少粒子之粒徑，其二粒子為多孔性材料，前者因具有很小的擴散阻礙，更無結垢阻塞等問題而具有更大的吸引力。

本研究在超順磁性氧化鐵奈米粒子表面導入含胺基之鹼性胺基酸分子，探討不同 pH 值條件下對三種不同胺基酸改質氧化鐵奈米粒子的效應，粒子的特性以震動式樣品磁測儀(VSM)、界面電位分析儀(Zeta Potential)及穿透式顯微鏡(TEM)量測，鹼性胺基酸吸附在粒子上的方式與吸附效率以熱重量分析儀(TGA)分析。由於粒子導入胺基後在中性環境下具有帶正電荷之特性，利用此特性來吸附與分離帶負電的質體(plasmids)。



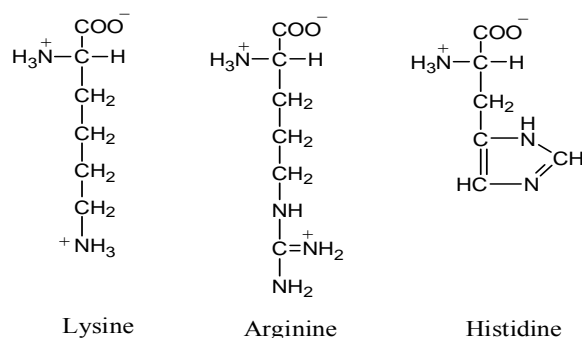


圖 1 三種胺基酸之化學結構

貳、實驗方法

分別取 0.1 ml 之 0.5 M 氯化亞鐵(Merck 公司 GR 級)、0.2 ml 之 0.5 M 氯化鐵(Merck 公司 GR 級)

- 一、水溶液加入 3.6 ml 水中，再加入 1.2 ml 之 5 N 氨水溶液。
- 二、將奈米粒子溶於 9 ml 0.1 N HCl(或 0.1 N NaOH)中，使用 0.1 N HCl(或 0.1 N NaOH)調整其 pH = 3.6(或 pH = 10.5)，再加入 1 ml 之 0.1 M 鹼性胺基酸(Lysine, Arginine 及 Histidine, 美國 Aldrich 公司 GR 級，結構如圖 1 所示)水溶液，於室溫下反應 24 小時。離心、再以水清洗沉澱物，重複數次。磁性粒子沉澱物分散於 10 ml 緩衝溶液中(50 mM Tris + 1 M NaCl, pH = 7.4)，備用。
- 三、粒子之特性以震動式樣品磁量儀(VSM, Vibration Sample Magnetometer, 美國 Lakeshore 公司 74000)、穿透式顯微鏡(TEM, Transmission Electron Microscope, 日本 Phillips 公司 Tecnai G2 F20)、界面電位(zeta potential, 英國 Malvern 公司 Zetasizer 3000HS)及熱重量分析(TGA, Thermo Gravity Analysis, 美國 Thermo 公司 Q50)檢測。TEM 試樣的製備程序如下，首先把銅網放置在含乾硬蠟床的培養皿上；再將裝有金屬奈米粒子溶液的樣本瓶置入超音波振盪器中振盪約 1 分鐘後，以乳頭滴管取出中間層的溶液，隨即滴在銅網上；待溶劑揮發後，放置乾燥箱中乾燥三天，即可進行 TEM 分析。TGA 測試條件如下，樣品約 30 mg，升溫條件為 20°C/min，觀察樣品在升溫過程之熱重量變化。
- 四、在緩衝溶液中(50 mM Tris 1 M NaCl, pH = 7.4)配製不同濃度的質體溶液，於波長 260 nm 下測其吸光值，畫出檢量線。取適量的質體溶液(質體為 pTRE₂-Lus (5800 bp)，濃度 1~6 μg/ml)，在各種濃度的質體溶液中分別加入 40 μl 磁性粒子分散液，由於磁性粒子吸附質體在 15 分鐘時可達飽和，故混合 20 分鐘後，磁吸或離心分離磁性粒子，測上層液之吸光值，比較吸附前後 UV-260 nm 吸光值之差異，根據檢量線可推算粒子對質體的吸附量。關於質體為 pTRE₂-Lus (5800 bp)之來源，菌株為 *Escherichia coli Origami (DH5'α)*，該菌株帶有質體 pTRE₂。

參、結果與討論

一、氧化鐵奈米粒子之特性

根據 TEM 及 VSM 的分析，本研究所製備之氧化鐵奈米粒子之粒子約 8.6 nm，在溫度 77 K 下之飽和磁化量為 87.7 emu/g (請參考附圖(A))。XRD 圖亦證明所製備的粒子為 Fe₃O₄ 奈米粒子((請參考附圖(B))。

由於粒子的界面電位會隨 pH 值變化而改變，當界面電位為零時之 pH 值即為等電點。如圖 2 所示，氧化鐵奈米粒子之等電點為 pH 6.5，如果粒子僅靠靜電排斥性來保持其穩定度，則在等電點附近時將使



粒子凝集成較大顆粒，因此，為避免此現象發生，改質粒子性質時，溶液系統的 pH 值應盡量避免在 6.5 附近。圖 3 是粒子的 TEM 圖，顯示兩種 pH 條件下，以鹼性胺基酸為改質劑改質氧化鐵奈米粒子，其粒徑在改質前後並沒有改變，且這些改質後的粒子極易分散在水溶液中。

為了將粒子應用在質體的純化分離上，將粒子分散在 pH 7.4 tris-HCl 的緩衝溶液中，粒子之界面電位如表 1 所示，未經改質的氧化鐵奈米粒子在 pH 7.4 的緩衝溶液中之界面電位為 +12.2 mV，而圖 2 顯示未經改質的氧化鐵奈米粒子在 pH 7.4 的水溶液中為 -20.1 mV，這個差異可能歸因於粒子在 pH 7.4 tris-HCl 的緩衝溶液中吸附 tris 等帶正電的分子或離子的緣故。此外，所有以鹼性胺基酸改質後的粒子之界面電位都比未經改質的粒子之界面電位高，尤其 pH 3.6 改質條件下所得到的粒子之界面電位更高，據此判斷胺基酸分子應該已吸附在粒子表面。而不同的胺基酸種類與不同的改質條件會導至胺基酸的吸附方式與吸附數目的不同，這是導致各類改質粒子之界面電位有差異的原因。這些差異將於稍後討論。

表 1 以鹼性胺基酸為改質劑在不同 pH 條件下修飾 Fe_3O_4 奈米粒子表面，各種粒子分散在緩衝溶液中的界面電位

改質條件	粒子種類	界面電位 (mV)
	unmodified Fe_3O_4	+12.2
pH 3.6	pH3.6/ Fe_3O_4 -lysine	+17.2
	pH3.6/ Fe_3O_4 -arginine	+18.9
	pH3.6/ Fe_3O_4 -histidine	+17.9
	pH10.5/ Fe_3O_4 -lysine	+14.5
pH 10.5	pH10.5/ Fe_3O_4 -arginine	+15.0
	pH10.5/ Fe_3O_4 -histidine	+14.8

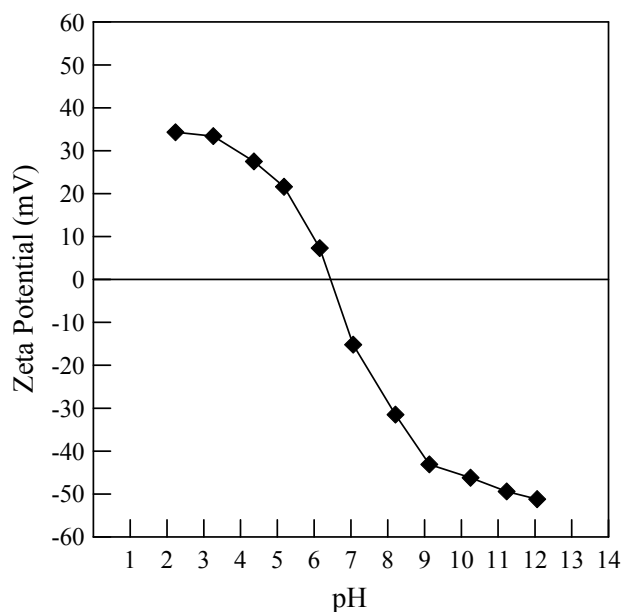
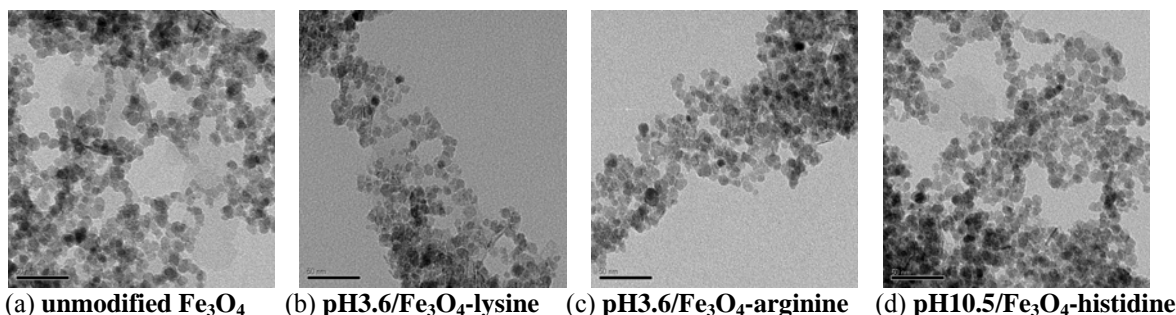


圖 2 未修飾 Fe_3O_4 奈米粒子之界面電位與溶液中 pH 值之曲線圖



圖 3 Fe₃O₄ 奈米粒子之 TEM

二、熱重量分析

眾所皆知，假使吸附方式為物理吸附，則吸附劑與被吸附物之間的作用力只是凡得瓦爾力，而吸附方式是化學吸附時，吸附劑與被吸附物之間的作用力是很強的共價鍵結。為了進一步了解鹼性胺基酸分子吸附在氧化鐵奈米粒子上的吸附形態與吸附量，以 TGA 分析粒子之熱重量損失溫度與其損失百分率，圖 4 為 pH 3.6 及 pH 10.5 條件下鹼性胺基酸改質粒子後之 TGA 圖，其結果整理於表 2 中。pH 3.6 條件下，鹼性胺基酸改質的粒子包括 pH3.6/lysine-Fe₃O₄ 與 pH3.6/arginine-Fe₃O₄ 都分別有兩個熱重量損失溫度，較低的熱重量損失溫度分別是 279、267°C，這兩個溫度尚不足以破壞共價鍵結，因此，粒子對胺基酸分子的吸附應該是物理吸附；較高的熱損失溫度(分別為 556°C 與 580°C) 代表胺基酸分子的熱裂解或化學吸附之脫附，因此，lysine 與 arginine 分子應該是以化學吸附方式吸附於粒子表面。而 pH=10.5 條件下，pH10.5/lysine-Fe₃O₄ 與 pH10.5/arginine-Fe₃O₄ 粒子都只有一個熱重量損失溫度(分別是 277、269°C)，這兩個溫度接近 pH3.6/lysine-Fe₃O₄ 與 pH3.6/arginine-Fe₃O₄ 粒子之較低的熱重量損失溫度，因此，胺基酸分子應該只是以物理吸附方式吸附於粒子表面。此外，pH3.6/histidine-Fe₃O₄ 只有一個較高熱裂解損失溫度(428°C)，此溫度高出 pH10.5/histidine-Fe₃O₄ 的熱重量損失溫度(289°C)很多，表示吸附於 pH3.6/histidine-Fe₃O₄ 粒子之 histidine 分子是以化學吸附方式吸附在粒子表面，而吸附於 pH10.5/histidine-Fe₃O₄ 粒子之 histidine 分子是以物理吸附方式吸附在粒子表面。

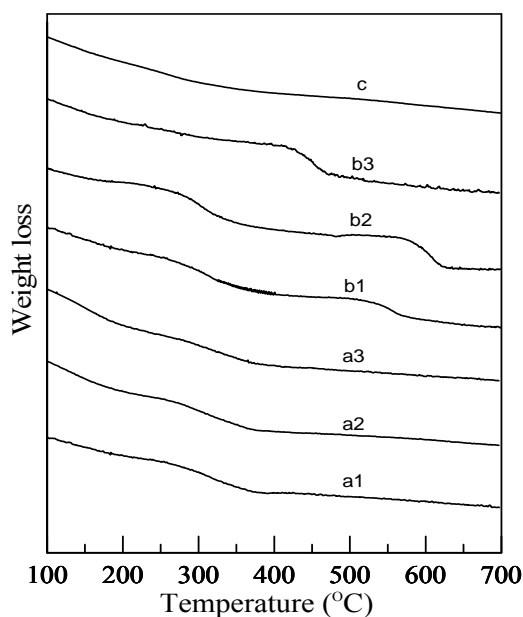
三、pH 值對改質效應的影響

三種鹼性胺基酸的 pK_a 值如表 3 所示[16]，據此，在不同溶液的 pH 值下，如表 4 所列，是計算得到的胺基酸分子之[-COO⁻]/[-COOH]、[-NH₂]/[-NH₃⁺] 和 [-NH_x]/[-NH_(x+1)⁺] 的比值。胺基酸分子的羧基與胺基的電荷會隨著溶液的 pH 值改變而改變，在 pH 10.5 條件下，顯示佔優勢的官能基分別為-NH₂、-COO⁻、以及-NH_x (histidine)或-NH_(x+1)⁺ (arginine/lysine)；另一方面，在 pH 3.6 條件下，溶液中佔優勢的官能基是-COO⁻、-NH_(x+1)⁺ 和 -NH₃⁺。有文獻提及，只有能提供電子對的官能基才可能以配位共價鍵方式螯合過渡金屬原子¹⁷⁻¹⁹，因此，本研究中能螯合鐵原子的是帶有富電子的-COO⁻、-NH₂ 和 -NH_x 等三類官能基。

如圖 2 所示，pH 10.5 下，未改質氧化鐵奈米粒子之界面電位為-47.1 mV，而溶液中佔優勢的官能基形態如-COO⁻、-NH₂ 和-NH_x，因此，帶負電荷的氧化鐵奈米粒子與這些官能基的吸引力會很小，尤其，帶負電荷的-COO⁻與帶負電荷的粒子會更加相互排斥而遠離，僅溶液中佔少數的-NH₃⁺和-NH_(x+1)⁺會與帶負電的粒子相吸引而以物理吸附方式吸附於粒子上，這些觀點與上一段所討論的相符合。

另一方面，pH 3.6 下，未改質的氧化鐵奈米粒子之界面電位為+30.1 mV，胺基佔優勢的形態為-NH₃⁺ and -NH_(x+1)⁺，這種帶正電的胺基與帶正電的粒子是相互排斥而遠離的；相反的，溶液中高濃度的-COO⁻將與粒子因相反電荷而緊密吸引，如表 2 所示，改質後的氧化鐵奈米粒子之 TGA 數據中呈現足以破壞共價鍵之高溫的熱重量損失溫度，這暗示胺基酸分子上的羧基與粒子間的吸附方式是化學吸附。



圖 4 Fe₃O₄ 奈米粒子之熱重量分析曲線

(a1) pH10.5/Fe₃O₄-lysine; (a2) pH10.5/Fe₃O₄-arginine; (a3) pH10.5/Fe₃O₄-histidine;
 (b1) pH3.6/Fe₃O₄-lysine; (b2) pH3.6/Fe₃O₄-arginine; (b3) pH3.6/Fe₃O₄-histidine; (c) unmodified Fe₃O₄

表 2 以鹼性胺基酸為修飾劑在不同 pH 條件下修飾 Fe₃O₄ 奈米粒子表面，各種粒子之熱重量分析數據

改質條件	粒子種類	重量損失之溫度 (°C)	重量損失 (%)	每顆 Fe ₃ O ₄ 奈米粒子吸附之胺基酸分子數
pH 3.6	pH3.6/Fe ₃ O ₄ -lysine	278/555	1.41 ^a /2.62 ^b 4.03 ^c	114 ^a /211 ^b 325 ^c
	pH3.6/Fe ₃ O ₄ - arginine	269/581	3.14 ^a /3.35 ^b 6.49 ^c	220 ^a /235 ^b 455 ^c
	pH3.6/Fe ₃ O ₄ - histidine	--/428	--/5.46 ^b 5.46 ^c	--/426 ^b 426 ^c
pH 10.5	pH10.5/Fe ₃ O ₄ -lysine	277	3.71 ^a	298 ^a
	pH10.5/Fe ₃ O ₄ -arginine	269	4.17 ^a	293 ^a
	pH10.5/Fe ₃ O ₄ -histidine	289	3.28 ^a	252 ^a

^a 物理吸附, ^b 化學吸附, ^c(物理吸附+化學吸附)

表 3 鹼性胺基酸之 pK_a 值[16]

胺基酸種類	pK ₁ (-COOH)	pK ₂ (-NH ₃ ⁺)	pK _R (R group)
Lysine	2.18	8.95	10.53
Arginine	2.17	9.04	12.48
Histidine	1.82	9.14	6.00

表 4 根據鹼性胺基酸之 pK_a 值，在兩種 pH 條件下，經計算得到之胺基酸 [-COO⁻]/[-COOH]、[-NH₂]/[-NH₃⁺] 與 [-NH_x]/[-NH_(x+1)⁺] 比值

胺基酸種類	[-COO ⁻]/[-COOH]		[-NH ₂]/[-NH ₃ ⁺]		[-NH _x]/[-NH _(x+1) ⁺]	
	pH 3.6	pH 10.5	pH 3.6	pH 10.5	pH 3.6	pH 10.5
Lysine	10 ^{1.42}	10 ^{8.32}	10 ^{-5.35}	10 ^{1.55}	10 ^{-6.93}	10 ^{-0.03}
Arginine	10 ^{1.43}	10 ^{8.33}	10 ^{-5.44}	10 ^{1.46}	10 ^{-8.88}	10 ^{-1.98}
Histidine	10 ^{1.78}	10 ^{8.68}	10 ^{-5.54}	10 ^{1.36}	10 ^{-2.40}	10 ^{4.50}
佔優勢的基團	-COO ⁻	-COO ⁻	-NH ₃ ⁺	-NH ₂	-NH _(x+1) ⁺	-NH _x -for Histidine -NH _(x+1) ⁺ : for Arginine/Lysine



如表 4 所示，在 pH 3.6 條件下，histidine 的 $[-\text{COO}^-]/[-\text{COOH}]$ 比值顯然高於 lysine 和 arginine 的 $[-\text{COO}^-]/[-\text{COOH}]$ 比值，顯然，胺基酸分子的低 pK_1 值代表更高濃度的 $-\text{COO}^-$ ，更高濃度的 $-\text{COO}^-$ 意味著更有利於與粒子形成化學吸附，因此，三種鹼性胺基酸中，低 pK_1 值的 histidine 化學吸附量最高，如表 2 所示，每個粒子對 histidine、arginine 與 lysine 的化學吸附量分別是 426、235 與 211 個分子，經計算得知，histidine、arginine 和 lysine 分子的化學吸附密度分別為 1.83、1.01 和 0.91 molecules/nm²，由於 histidine 分子高密度的佔據粒子表面，因此 pH3.6/Fe₃O₄-histidine 粒子不存在物理吸附的 histidine 分子，而化學吸附密度較低的 pH3.6/Fe₃O₄-arginine 和 pH3.6/Fe₃O₄-lysine 粒子則仍然有物理吸附的 arginine 和 lysine 分子。

當鹼性胺基酸的 $-\text{COO}^-$ 端吸附於粒子表面時，鹼性胺基酸分子的兩種胺基(中性時帶正電)指向粒子外圍，使得改質後的粒子有較高正值的界面電位。在 pH 3.6 條件下，有利於使胺基酸的 $-\text{COO}^-$ 端化學吸附在粒子上，因此，如表 1 所示，pH 3.6 條件下改質後的粒子比 pH 10.5 條件下改質後的粒子有較大正值的界面電位。pH3.6/Fe₃O₄-arginine 粒子的 arginine 化學吸附量雖較 pH3.6/Fe₃O₄-histidine 粒子的 histidine 化學吸附量少，且兩者的 pK_2 值相當，但 arginine 的 pK_R 值較高，使得 pH3.6/Fe₃O₄-arginine 粒子有較高正值的界面電位；pH3.6/Fe₃O₄-lysine 粒子的 lysine 化學吸附量與物理吸附量皆最少，因此，pH3.6/Fe₃O₄-lysine 粒子的界面電位最低。而較高正值的界面電位將有利於提高粒子對質體(中性溶液中負電荷)的吸附量。這些將於後面討論。

四、磁性奈米粒子對質體的吸附

pH 3.6與pH 10.5改質條件下之粒子皆帶有正電荷，因此可用來吸附帶負電的質體，圖5所示為改質條件pH 3.6下之Fe₃O₄奈米粒子吸附質體，並經緩衝溶液(50 mM Tris, 1.25 M NaCl, pH=8.4) 脫附後之質體電泳圖。改質後的氧化鐵奈米粒子對質體的吸附曲線如圖6所示，此圖顯示所有粒子對質體之等溫吸附皆為蘭格牟等溫吸附(Langmuir adsorption isotherm)，並整理於表5中，Langmuir isotherm 方程式可表示如下：

$$\frac{c_e}{q_e} = \frac{1}{K q_m} + \frac{c_e}{q_m} \quad (1)$$

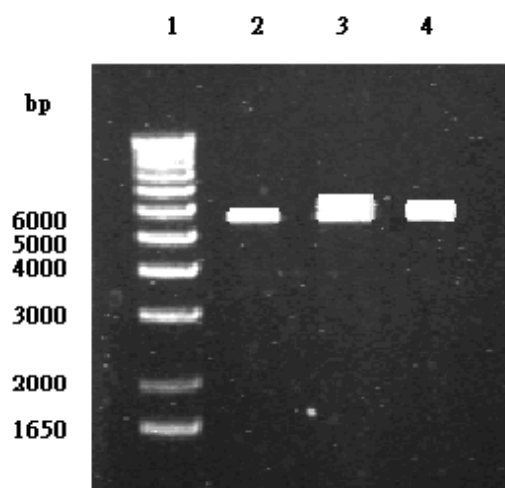


圖 5 以改質條件 pH 3.6 下之 Fe₃O₄ 奈米粒子吸附質體，並經緩衝溶液脫附後之質體電泳圖。
1、2、3、4 分別代表以 Marker 及 pH3.6/Fe₃O₄-lysine、pH3.6/Fe₃O₄-arginine、pH3.6/Fe₃O₄-histidine 粒子所吸附之質體電泳圖。



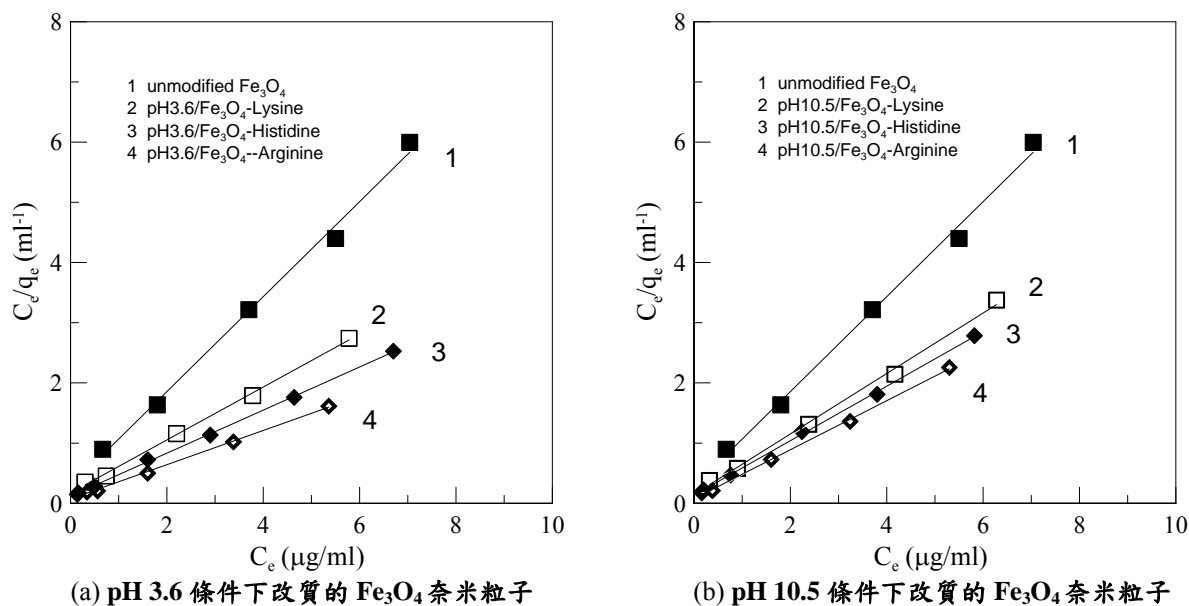


圖 6 25°C及緩衝溶液 pH 7.4 條件下，Fe₃O₄ 奈米粒子吸附質體之 Langmuir 等溫吸附

表 5 Fe₃O₄ 奈米粒子對質體之最大吸附容量

改質條件	粒子種類	質體之最大吸附容量 q_m^* (μg)	界面電位 (mV)
	unmodified Fe ₃ O ₄	1.25	+12.2
pH 3.6	pH3.6/Fe ₃ O ₄ -lysine	2.26	+17.2
	pH3.6/Fe ₃ O ₄ -arginine	3.39	+18.9
	pH3.6/Fe ₃ O ₄ -histidine	2.68	+17.9
pH 10.5	pH10.5/Fe ₃ O ₄ -lysine	1.91	+14.5
	pH10.5/Fe ₃ O ₄ -arginine	2.23	+15.0
	pH10.5/Fe ₃ O ₄ -histidine	2.09	+14.8

*40 μl Fe₃O₄ 奈米粒子懸浮液(粒子數目約 1.38×10^{13} 個)與質體溶液混合，再加入緩衝溶液使總體積為 500 μl

其中， C_e (μg/ml)、 q_e (μg)分別為平衡時水溶液中質體的濃度與對質體的吸附量， q_m (μg)為最大吸附量， K 為 Langmuir 常數。比較圖 6(a)、(b)二圖，pH 3.5 條件下改質的粒子之質體吸附量明顯高於 pH 10.5 條件下改質的粒子；又，表 5 顯示最大吸附量的大小次序為 pH3.6/Fe₃O₄-arginine > pH3.6/Fe₃O₄-histidine > pH3.6/Fe₃O₄-lysine > pH10.5/Fe₃O₄-arginine > pH10.5/Fe₃O₄-histidine > pH3.6/Fe₃O₄-lysine > unmodified Fe₃O₄，此最大吸附量的高低顯然與粒子的界面電位大小呈正相關，其中 pH3.6/Fe₃O₄-arginine 粒子對質體的吸附量幾乎為 unmodified Fe₃O₄ 粒子的三倍；此外，unmodified Fe₃O₄ 粒子在含有 tris-HCl 的緩衝溶液中可能吸附含胺基的 tris 分子，使粒子在 pH 7.4 的緩衝溶液中帶正電荷，這是 unmodified Fe₃O₄ 粒子能吸附少量質體的原因。

肆、結論

pH 10.5 條件下，鹼性胺基酸改質的氧化鐵奈米粒子，胺基酸分子僅以物理吸附方式吸附於粒子表面；pH 3.6 條件下，pH3.6/Fe₃O₄-arginin 與 pH3.6/Fe₃O₄-lysine 粒子上之胺基酸分子則同時以物理吸附及化學吸附兩種方式吸附於粒子表面，而 pH3.6/Fe₃O₄-histidine 粒子上之胺基酸分子則僅以化學吸附方式吸附於粒子表面；由此觀之，不同酸鹼值的改質條件與不同鹼性胺基酸改質劑兩者同時影響氧化鐵奈米粒子的改質效果，並因此影響粒子的界面電位，而這些改質後的粒子(帶正電荷)對質體(帶負電荷)的吸附效率與粒



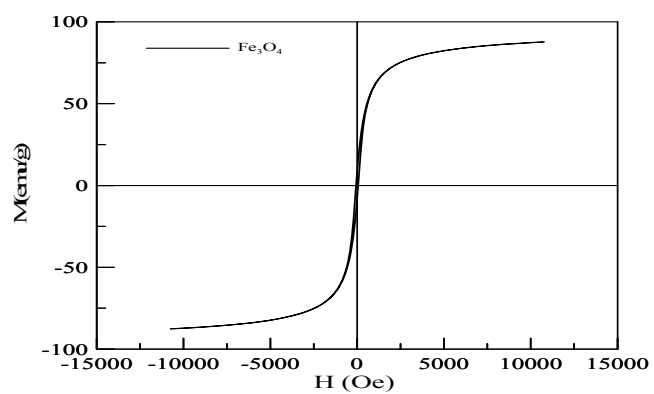
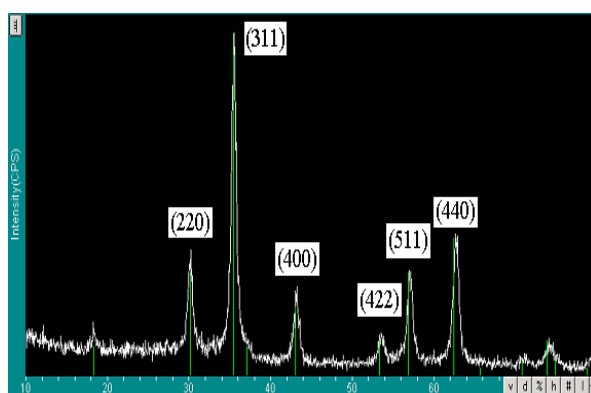
子的界面電位呈正相關。當應用於質體的分離純化時，pH 3.6 條件下改質的氧化鐵奈米粒子顯然有較佳的分離效果，此因在 tris-HCl 緩衝溶液中，這些粒子帶有較大的正電荷之故。

參考文獻

- [1] A. R. Herdt, B.-S. Kim, T. A. Taton, Encapsulated Magnetic Nanoparticles as Supports for Proteins and Recyclable Biocatalysts, *Bioconjugate Chemistry* 18 (2007) 183-189.
- [2] P. Merel, B. Dupin, F. Comeau, Completely automated extraction of DNA from whole blood, *Clinical Chemistry* 42 (1996) 1285-1286.
- [3] Z. Ji, D.I. Pinon, L. Miller, L. Miller, Development of Magnetic Beads for Rapid and Efficient Metal-Chelate Affinity Purifications, *Analytical Biochemistry* 240 (1996) 197-201.
- [4] W. Xie, N. Ma, Immobilized Lipase on Fe₃O₄ Nanoparticles as Biocatalyst for Biodiesel Production, *Energy and Fuels* 23 (2009) 1347-1353.
- [5] X.-D. Tong, B. Xue, Y. Sun, A Novel Magnetic Affinity Support for Protein Adsorption and Purification, *Biotechnol. Prog.*, 17 (2001) 134-139.
- [6] S.V. Sonti, A. Bose, DNA Isolation Using Avidin-Coated Magnetic Nanoclusters, *Colloids and surface B: Biointerface* 8 (1997) 199-204.
- [7] U. Hafeli, W. Schutt, J. Teller, M. Zborowski, *Scientific and Clinical Applications of Magnetic Carriers*, New York, Plenum Press (1997).
- [8] A. B. Bourlions, A. Simopoulos, D. Petridis, Synthesis of Capped Ultrafine γ -Fe₂O₃ Particles from Iron(III) Hydroxide Caprylate: A Novel Starting Material for Readily Attainable Organosols, *Chem. Mater.* 14 (2002) 899-903.
- [9] J. Lin, W. Zhou, A. Kumbhar, J. Wiemann, J. Fang, E. E. Carpenter, C. J. O'Connor, Gold-Coated Iron (Fe@Au) Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Magnetic Field-Induced Self-Assembly, *J. solid State Chemistry* 159 (2001) 26-31.
- [10] A. B. Bourlions, A. Simopoulos, D. Petridis, Surface Modification of Ultrafine Magnetic Iron Oxide Particles, *Chem. Mater.* 14 (2002) 3226-3228.
- [11] Y. Lu, Y. Yin, B. T. Mayers, Y. Xia, Modifying the Surface Properties of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles through A Sol-Gel Approach, *Nano Lett.* 3 (2002) 183-186.
- [12] S. J. Oldenburg, R. D. Averitt, S. L. Westcott, N. J. Halas, Surface Modification of Ultrafine Magnetic Iron Oxide Particles, *Chemical Physics Letters* 288 (1998) 243-247.
- [13] B. Yoza, A. Araki, T. Matsunaga, DNA extraction using bacterial magnetic particles modified with hyperbranched polyamidoamine dendrimer, *J. Biotechnology* 101 (2003) 219-228.
- [14] A. M. Homola, M.R. Lorenz, C. J. Mastrangelo, T. L. Tilbury, Novel magnetic dispersions using silica stabilized particles, *IEEE Tran. on Magn. Magn.* 22 (1986) 716-719.
- [15] F. Caruso, M. Spasova, A. Susha, M. Giersig, R. A. Caruso, Magnetic Nanocomposite Particles and Hollow Spheres Constructed by a Sequential Layering Approach, *Chem. Mater.* 13 (2002) 109-116.
- [16] D. L. Nelson, M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*, New York, Worth Publishers (1997).



<附圖>

附圖(A) Fe₃O₄ 奈米粒子在 77 K 下之磁化曲線圖附圖(B) Fe₃O₄ 奈米粒子之 XRD 圖