

蛍光性色素の電子・電荷移動特性に基づいた水分検出・定量・可視化蛍光分析法の創成

所属： 広島大学 大学院工学研究科 応用化学専攻

助成対象者： 大山 陽介

概要

本研究では、蛍光性色素の光誘起電子移動(PET)および分子内電荷移動特性(ICT)を利用して、試料中や試料表面の水分を検出・定量化かつ可視化(蛍光発光による画像化)できる新規な蛍光性水センサーを創製し、Society 5.0 や SDGs に資する機能性色素材料群に発展させることを目的とする。PET および ICT 特性を利用した微量水分検出のメカニズムを基礎的に解明し、PET および ICT 型蛍光性水センサーの分子設計指針に関する有用な知見を得ることで、蛍光性水センサーに基づいた微量水分検出・定量・可視化蛍光分析法(評価システム)を世界に先駆けて創成(JIS や ISO などの国家・国際規格化)することを目指す。

abstract

For development of functional dye materials contributing to Sustainable Development Goals (SDGs) and Society 5.0, the aim of this work is to design and synthesis some kinds of fluorescent sensor for water based on PET (photo-induced electron transfer) and ICT (intramolecular charge transfer) characteristics of fluorescent dyes. Thus, this goal is to construct fluorescent method (evaluation system) based on the PET and ICT characteristics with the visualization as well as detection and quantification of a trace amount of water in samples and products, such as solutions, solids, and gas or water on the surface of a substrate.

研究内容

1. 背景

固体、液体および大気中に含まれる微量水分を検出・定量できる分析法の確立は、構造物の劣化部分の漏水検出、工業製品や食品の品質管理、環境モニタリングなどの人間生活や環境保全の面で非常に重要であることは論を俟たない。代表的な水分検出法として、水と選択的かつ定量的に反応するカール・フィッシャー試薬を用いた電気化学分析であるカール・フィッシャー(KF)法(1モルの水分子に対して1モルのヨウ素が関与するKF反応に要した電気量から水分量を算出：水 1mg = 10.71 クーロン)がある。KF法は、高感度(測定範囲は数 ppm～100%)であるが、サンプルの一部を取り出して測定するバッチ方式であり、オンラインでのリアルタイム測定や試料中や試料表面の水分の可視化は不可能であり、その場観察(画像化)ができない。一方、蛍光性水センサーを開発することができれば、迅速、高感度かつオンラインでのリアルタイム測定や目視による可視化(蛍光発光による画像化)も可能な水分検出・定量化蛍光分析法の確立を図れるものと期待できる。水センサーに関する国内外の研究動向として、近年、有機化合物に基づいた比色および蛍光発光性の水センサーが徐々に注目を集め、光化学、分析、有機物理化学や材料化学分野での基礎的研究の興味だけでなく実用的応用への期待からも関心が高まっている¹。実際に、数種の蛍光性水センサーが開発されてきた。例えば、アクリジン系色素²や1,8-ナフタルイミド系色素³は、溶液中の微量水分領域(5 wt%以下)において蛍光センシング特性を示すが、これら蛍光性色素の水分検出メカニズムは不明な点が多く、水分検出とセンサー構造の相関性に関する系統的な基礎研究が困難であった。さらに、これら従来の蛍光性色素を用いた水分検出は、水分含有量の増加に伴う蛍光発光強度の減少を追跡するものであり、水分を可視化することが難しいだけでなく、検出限界や定量限界が高いという問題があった。したがって、従来の蛍光性水センサーを用いた水分検出法は、水分量の増加に伴う蛍光発光減少系であり、水分の可視化や検出・定量限界の向上が難しい。

2. 目的

上記 1.の学術的・社会的背景から本研究では、蛍光性色素の光誘起電子移動(Photo-induced Electron Transfer: PET)特性あるいは分子内電荷移動(Intramolecular Charge Transfer: ICT)特性を利用して試料中および試料表面の水 1 分子を検出・定量化かつ可視化できる蛍光発光増強型および発光波長変化型の蛍光性水センサーを創製することを目的とする。そこで本研究を遂行するために、1) 水 1 分子を検出・定量・可視化できる 1 波長励起・1 波長発光(1Ex・1Em)

型の PET 型蛍光性水センサーと 2) 環境依存性や測定誤差を低減できる 2 波長励起・2 波長発光(2Ex・2Em)型の ICT 型蛍光性水センサーを開発する。今回、1Ex1・1Em2 型の水分検出用蛍光性センサーとして、PET 特性と蛍光共鳴エネルギー移動(Fluorescence Resonance Energy Transfer: FRET)特性を有する PET-FRET 型蛍光性水センサーの合成および有機溶媒中での水分に対する蛍光センシング特性を調査した結果について報告する。

3. 結果

スキーム 1 に示した合成経路により、エネルギー供与体(ED)である蛍光発光母体としてのアントラセンとエネルギー受容体(EA)である蛍光発光母体としての BODIPY をリンカー(連結基)により結合した PET-FRET 型蛍光性水センサー **DJ-1** を合成した。すなわち、水分検出に伴い PET (アミノ基から光励起状態のアントラセンへの電子移動) が不活性化(抑制)された場合にアントラセン(ED)を光励起(Ex^1)すると、その励起エネルギー(ED の蛍光発光エネルギー: Em^1)が BODIPY(EA)に移動(EA が ED の蛍光発光エネルギーを吸収)し、励起された BODIPY が蛍光発光(Em^2)する(図 1)。したがって、PET-FRET 型蛍光性水センサーでは光吸収(励起)波長(Ex^1)と蛍光発光波長(Em^2)の差(ストークスシフト: SS)が非常に大きいことから、水分の検出に伴う蛍光スペクトル(発光色)を効果的に観測することができる。アセトニトリル中において **DJ-1** は、300–400 nm (吸収極大波長(λ^{abs}_{max}) = 367 nm,モル吸光係数(ϵ_{max}) = 14200 M⁻¹ cm⁻¹) 付近にアントラセン骨格に由来する光吸収帯、および 420–520 nm (λ^{abs}_{max} = 498 nm, ϵ_{max} = 72000 M⁻¹ cm⁻¹) 付近に BODIPY 骨格に由来する吸収帯を示した。対応する蛍光スペクトルにおいて、**DJ-1** は、アントラセン骨格 (λ^{ex} = 367 nm) あるいは BODIPY 骨格 (λ^{ex} = 472 nm) で光励起した場合、480–600 nm の領域に蛍光極大波長 (λ^{fl}_{max} = 508 nm) を有する BODIPY 骨格に由来する蛍光発光帯を示した。さらに、**DJ-1** の擬似 SS 値 (アントラセン骨格の λ^{abs}_{max} と BODIPY 骨格の λ^{fl}_{max} 間の波長 (nm)あるいは波数(cm⁻¹)の差) は、7563 cm⁻¹(141 nm)もの非常に大きい値を示した。したがって、**DJ-1** 溶液への水の添加は、アミノメチルフェニルボロン酸部位における PET の抑制とアントラセン骨格から BODIPY 骨格への FRET の発現を引き起こし、結果として BODIPY 骨格由来の発光帯の増強が観測されると期待される。そこで実際に、有機溶媒としてアセトニトリルを用いて、**DJ-1** 溶液中の水分量増加に伴う光吸収および蛍光スペクトル変化を追跡した。水分量の増加に伴い光吸収スペクトルに殆ど変化はみられなかった。一方、対応する蛍光スペクトルでは、アントラセン骨格で光励起 (λ^{ex} = 367 nm) した場合、

水分量の増加に伴い 480–600 nm の領域に蛍光極大波長 ($\lambda^{\text{fl}}_{\text{max}} = 508 \text{ nm}$) を有する BODIPY 骨格に由来する蛍光発光帯の強度が増大した。水分量の増加に伴う蛍光発光強度の増大は、5.0 wt で飽和に達した。一方、BODIOY 骨格で光励起 ($\lambda^{\text{ex}} = 472 \text{ nm}$) した場合、水分量の増加に伴う BODIPY 骨格に由来する蛍光発光帯の強度やスペクトル波形に変化は見られなかった。すなわち、これらの結果は、**DJ-1** 溶液の水分量の増加に伴う BODIPY 骨格由来の発光帯の増強は、アミノメチルフェニルボロン酸部位における PET の効果的な抑制と ED であるアントラセン骨格から EA である BODIOY 骨格への FRET の発現に起因していることを強く示唆している。

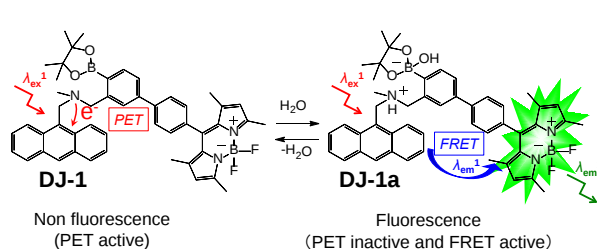
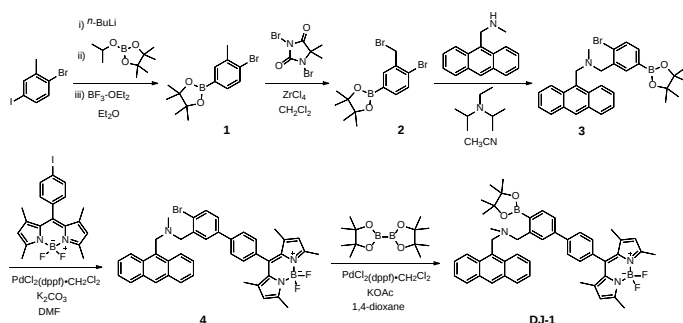


図 1. PET-FRET 型蛍光性水センサー **DJ-1** の水分検出メカニズム



スキーム 1. **DJ-1** の合成

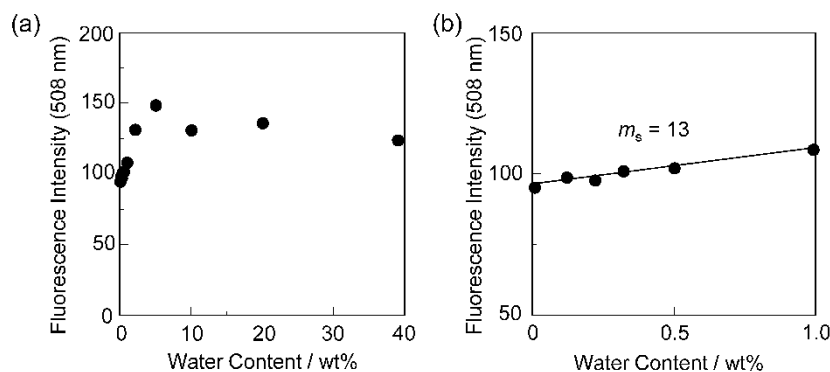


図 2. **DJ-1** のアセトニトリル溶液中の水分量増加 (a: 40 wt% 以下, b: 1.3 wt% 以下) に伴う最大蛍光強度 ($\lambda^{\text{fl}}_{\text{max}} = 508 \text{ nm}$) の変化 ($\lambda^{\text{ex}} = 367 \text{ nm}$)

そこで、水分量と蛍光強度の関係を明確にするために、水分量に対して最大蛍光強度 ($\lambda^{\text{fl}}_{\text{max}} = 508 \text{ nm}$) をプロットした (図 2)。図 2a から、水分量の増加に伴う蛍光発光強度の増大は、5.0 wt で飽和に達することがわかった。約 1.0 wt% 以下の水分量にする $\lambda^{\text{fl}}_{\text{max}} = 508 \text{ nm}$ での蛍光強度のプロット (図 2b) は、ほぼ原点を通る直線 ($R^2 = 0.96$) であり、**DJ-1** は水分検出・定量性を有する実用的な蛍光性水センサーとして有望であることがわか

った。図 2b の直線の傾き ($m_{sl} = 13$) とブランクの標準偏差 (σ) から、DJ-1 のアセトニトリル中における水分量の検出限界 ($DL = 3.3\sigma/m_{sl}$) を算出した結果、0.25 wt%であった。PET-FRET 型蛍光性水センサーの水分検出限界の改善をさらに図るために、現在、ED と EA 間のスパーサーを修飾した PET-FRET 型蛍光性水センサーの開発を進行している。

4. 今後の計画

上記の研究結果が示すように、本研究者らは、水分検出に伴う蛍光増大型の PET-FRET 型蛍光性色素は、微量水分を検出・定量・可視化できる蛍光分析法の確立に資する有望な水センサーであることを実証した。このような比色性および蛍光発光性の有機系水センサーは光化学、分析化学、有機物理化学分野における基礎的研究だけでなく、土木、建築材料、医療、医薬、化粧品および衛生材料など、多種多様な水分応答性材料としての社会実装が図れるものと期待している。

引用文献

1. H. S. Jung, P. Verwilt, W. Y. Kim and J. S. Kim, *Chem. Soc. Rev.*, 2016, **45**, 1242.
2. D. Citterio, K. Minamihashi, Y. Kuniyoshi, H. Hisamoto, S. Sasaki and K. Suzuki, *Anal. Chem.*, 2001, **73**, 5339.
3. Z. Li, Q. Yang, R. Chang, G. Ma, M. Chen and W. Zhang, *Dyes. Pigm.*, 2011, **88**, 307.

本助成に関わる成果物

[論文発表]

1. D. Jinbo, K. Imato and Y. Ooyama*; Fluorescent sensor for water based on photo-induced electron transfer and Förster resonance energy transfer: anthracene-(aminomethyl)phenylboronic acid ester-BODIPY structure; *RSC Adv.*, **2019**, 9, 15335-15340. Selected as Editors' collection focusing on Fluorescent Sensors in 2019

[口頭発表]

1. 三瀬 裕大, 今榮 一郎, 大山 陽介; 微量から高水分水分領域に対応可能な PET-AIE 型蛍光性水センサー TPE-An4 の開発; 日本化学会 第 99 春季年会, 2019 年 3 月 17 日, 甲南大学, 岡本キャンパス.

2. 神保 乃輔, 今柴 一郎, 大山 陽介; アントラセン - BODIPY 構造を有する PET - FRET 型蛍光性水センサーの開発; 日本化学会 第 99 春季年会, 2019 年 3 月 17 日, 甲南大学, 岡本キャンパス.

3. 津村 修平, 榎 俊昭, 今柴 一郎, 大山 陽介; ジュロリジン骨格を含む β -カルボリン-三フッ化ホウ素錯体を用いた光学的水センサーの開発; 日本化学会 第 99 春季年会, 2019 年 3 月 17 日, 甲南大学, 岡本キャンパス.

[ポスター発表]

1. S. Tsumura and Y. Ooyama; Colorimetric and Fluorescent Sensor for Water Based on D-(π -A)2-type Pyridine-Boron Trifluoride Complex; The 6th International Symposium on Dyeing and Finishing (ISDF), WINC AICHI, Nagoya, Japan, Abstract Number P26, (12 November 2018).