

研究助成報告書（中間・終了）

No.1

整理番号	H28-J-083	報告者氏名	大山 陽介
------	-----------	-------	-------

研究課題名

光誘起電子移動に基づいた蛍光性水センサーの創製と水1分子可視化蛍光分析法の確立

<代表研究者> 機関名：広島大学 大学院工学研究科 職名：教授 氏名：大山 陽介

<共同研究者> 機関名： 職名： 氏名：
機関名： 職名： 氏名：
機関名： 職名： 氏名：
機関名： 職名： 氏名：

<研究内容・成果等の要約>

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。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・フィッシャー法がある。本法は、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。そこで、本研究では、試料中および試料表面の超微量水分を蛍光性色素の光誘起電子移動（Photo-induced Electron Transfer: PET）に基づいて検出・定量化かつ可視化（画像化）できるPET型蛍光性水センサーを創製し、PETに基づいた水1分検出・定量化蛍光分析法の確立を目的とする。すなわち、本研究の目的は、超微量水分の検出・可視化を可能とする高度機能性材料としてのPET型蛍光性水センサーの分子設計指針を確立することで、PET法による微量水分検出のメカニズムの解明とPETを利用した超微量水分検出法という新しい方法論を提供し、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（画像化）できるエポックメイキングな蛍光分析法（評価システム）を世界に先駆けて創成するところにある。

<研究成果1> 水1分子可視化蛍光分析法の確立に資する蛍光性水センサー開発の事前研究として、凝集誘起発光（aggregation-induced emission: AIE）特性を有する水溶性テトラフェニルエテン（WS-TPE）を合成し、水および含水有機溶媒中での発光特性について調査した。さらに、走査型電子顕微鏡（SEM）および動的光散乱（DLS）測定から、WS-TPEの水溶液中への有機溶媒の添加による蛍光性凝集体の形成について調査した。本研究から、水溶性の蛍光性センサーは、水中の微量有機溶媒分子の検出および定量化に有用であることが示唆された。

<研究成果2> 分子内電荷移動（ICT）型蛍光性水センサーとしてピリジン-ホウ素錯体 **YNI-2-BF₃** を開発した。微量水分領域（～3wt%）において、無蛍光性の **YNI-2-BF₃** が水分子と接触することで BF₃ が解離し、**YNI-2** の形成に伴って ICT 特性が変化することで蛍光強度が急激に増大した。3wt%～40wt%の中水分領域において、**YNI-2** のピリジル基と水分子での水素結合の形成により ICT 特性が再度変化することで、蛍光波長の長波長シフトと蛍光強度の緩やかな減少が観測された。

<研究発表（口頭、ポスター、誌上別）>

・口頭発表（依頼・招待講演）

1. 大山陽介; 水分検出・定量・可視化用蛍光性センサーの創製; 日本化学会 第98春季年会 特別企画「超スマート社会の実現に貢献するサステイナブル・機能レドックス化学」, 2018年3月20日, 日本大学理工学部, 船橋キャンパス
2. 大山陽介; 水分検出・定量・可視化用蛍光性センサーの開発; 環境共生スマート材料研究拠点講演会, 2017年12月4日, 広島大学
3. 大山陽介; 光誘起電子移動特性と凝集誘起発光特性に基づいた蛍光性水センサー; 第66回高分子討論会, 2017年9月21日, 愛媛大学, 城北キャンパス
4. 大山陽介; 新規機能性色素材料：デバイス、医療、センサー用まで; イノベーション・ジャパン2017-大学見本市（JST, NEDO主催）, 2017年8月31日～9月1日, 東京ビッグサイト(東京国際展示場) 東展示棟, 東京・江東
5. Y. Ooyama; Fluorescence PET (Photo-induced Electron Transfer) Sensors for Water Based on Anthracene-Phenylboronic Acid Ester; Collaborative Conference on Materials Research (CCMR) 2017; Jeju Island, South Korea (26 June 2017).
6. 大山陽介; 機能性色素のレドックス制御とオプトエレクトロニクスデバイスへの展開; 日本化学会 第97春季年会 特別企画「サステイナブル・機能レドックス化学」, 2017年3月16日, 慶應義塾大学, 横浜
7. 大山陽介; 光誘起電子移動に基づいた蛍光発光型水センサー; 第4回 元素ブロック若手シンポジウム, 2016年12月8日, 湯の宿木もれび, 滋賀県大津市

・口頭発表（指導学生）

1. 2018年度 色材研究発表会 優秀講演賞 ○榎 俊昭・大山陽介「 β -カルボリン-ホウ素錯体を利用した蛍光性水センサーの開発」 2018年9月7日
2. 2017年日本化学会中国四国支部大会 優秀ポスター賞 ○鷺坂利澄・大山陽介・大下淨治「微量から高水分領域に対応可能な光誘起電子移動(PET)-凝集誘起発光特性(AIE)型蛍光性水センサーの開発」 2017年11月30日
3. 杉野通誉、大山陽介、大下淨治；スルホン酸基を導入したテトラフェニルエチレン(TPE)の発光特性；日本化学会第97春季年会 (2017), 2E4-44, 2017年3月17日, 慶應義塾大学, 横浜

・国際学術誌

Y. Ooyama, M. Sugino, T. Enoki, K. Yamamoto, N. Tsunooji and J. Ohshita; Aggregation-induced emission (AIE) characteristic of water-soluble tetraphenylethene (TPE) bearing four sulfonate salts; *New J. Chem.*, **2017**, 47, 4747-4749.

・解説

1. 大山陽介; 微量水分を検出・定量・可視化できる蛍光性水センサー; 加工技術; **2018**年, Vol. 53 (5), p301-307.
2. 大山陽介; 微量水分検出・定量化用蛍光性センサー; 色材協会誌「新しい機能を持った先端材料」Vol. 91 (1), 2018年1月号, p17-23.

<研究の目的、経過、結果、考察（5000字程度、中間報告は2000字程度）>

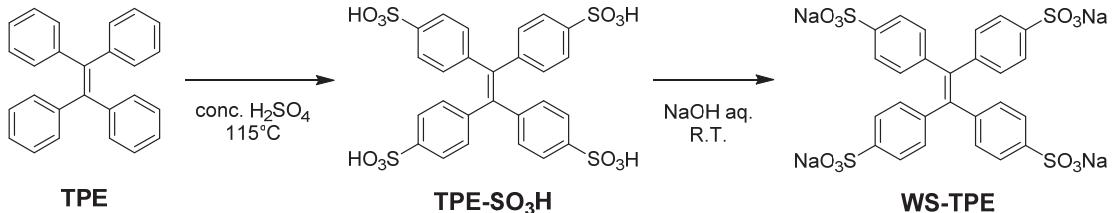
・研究成果1

Scheme 1に示すように、水溶性テトラフェニルエテン（WS-TPE）は、テトラフェニルエテンのスルホン化の後、水酸化ナトリウムで処理することで合成することが出来た。合成したWS-TPEの構造決定は、¹H NMR, ¹³C NMRおよび高性能質量分析（HRMS）から行った。実際に、WS-TPEは純水中に0.71g/mlもの高い水溶性を示すことがわかった。

TPE誘導体は、その溶液中に多量の水を添加することで凝集体の形成に伴うフェニルキの分子内回転の抑制（TPEのフェニルキの分子内回転は、光励起状態の熱失活を引き起こす）により、凝集誘起発光（AIE）特性を示すことが知られている。WS-TPEのAIE特性を調査するために、THF - 水混合溶媒中でのWS-TPEの光吸收および蛍光スペクトル測定を行った（Fig. 1a, b）。純水中において、WS-TPEは、315 nm付近（モル吸光係数(ϵ) = 16000 M⁻¹cm⁻¹）に光吸收帯と500 nm付近に非常に微弱な蛍光発光帯（蛍光量子収率(Φ) < 0.01）を示した。約90 wt%以下のTHFを含むTHF - 水混合溶媒中（すなわち、約10 wt%以上の水を含むTHF - 水混合溶媒中）において、WS-TPEの光吸收スペクトルは殆ど変化しない。純水（100 wt%の水）から70 wt%の水を含むTHF - 水混合溶媒中において、THF量の増加に伴い500 nm付近の蛍光強度は徐々に増大した。これは、水あるいはTHF分子とWS-TPE間での双極子 - 双極子相互作用のような相互作用と溶媒和の変化に起因していると考えられる。一方、THF含有量が95%以上のTHF - 水混合溶媒中（すなわち、約5wt%以下の水を含むTHF - 水混合溶媒中）において、光吸收帯はベースラインの上昇と共に40 nmほど長波長シフトし、一方、蛍光発光帯は、蛍光強度の増大を伴って40 nmほど短波長シフトした。この光吸收帯のベースラインの上昇は、ナノサイズの微粒子の存在を示唆している。水分量に対する蛍光強度 (I/I_0 -1) のプロットから、WS-TPEは、その水溶液中へのTHFの添加に伴いAIE特性を示すことがわかった（Fig. 1c）。WS-TPEの水溶液中へのTHFの添加に伴う凝集体の形成は、チングル現象からも確認できた（Fig. 1d）。Fig. 1eに示したように、1wt%の水を含むTHF - 水混合溶媒中において、365 nmの光照射の下、青色発光が肉眼で観測できる。しかしながら、TPEの純水溶液中においては、そのような蛍光発光は肉眼ではみることが出来なかつた。THF - 水混合溶媒の場合と同様に、1,4-ジオキサンやアセトニトリルの水混合溶媒中においても、90-95 wt%以上の1,4-ジオキサンおよびアセトニトリルを含む水混合溶媒中において、光吸收帯のベースラインの上昇と長波長シフト、および蛍光発光帯の蛍光強度の増大と短波長シフトが観測できた。興味深いことに、THF - 水混合溶媒の凝集体に比べて、固体状態のWS-TPEの光吸收および蛍光発光帯は、長波長側に出現した（Fig. 2）。固体蛍光量子収率は0.35であり、THF - 水混合溶媒の凝集体（ Φ < 0.01）に比べて、非常に高い値を示した。固体と凝集体間での光学特性の相違は、分子配列や分子間π-π相互作用の相違に起因しているものと示唆される。

WS-TPEの純水溶液中への有機溶媒の添加に伴う凝集体形成を確認するために、1wt%の水を含むTHF - 水混合溶媒の動的光散乱（DLS）測定を行った（Fig. 3a）。さらに、1wt%の水を含むTHF - 水混合溶媒から得た物体に対する走査型電子顕微鏡（SEM）観測を行った（Fig. 3b）。DLS測定から、100 nmの平均粒径サイズを持つナノ粒子が存在していることがわかった。一方、SEM画像からは、ナノ粒子が集合したマイクロサイズの凝集体の形成が観測できた。この結果から、WS-TPEの純水溶液中への有機溶媒の添加に伴う凝集体の形成が、光吸收帯の長波長シフトおよび蛍光発光増大の原因であり、すなわち、WS-TPEはAIE特性を示すことが明らかとなった。

以上の結果から、我々は、水溶性の WS-TPE が、その水溶液中への有機溶媒の添加に伴う AIE 特性を示すことを明らかにした。本研究において、水中の微量有機溶媒分子の検出および定量化を可能とする AIE 特性に基づいた蛍光性センサーの分子設計に関する有用な知見を示すことができた。に有用であることが示唆された。



Scheme 1 Synthesis of **WS-TPE**.

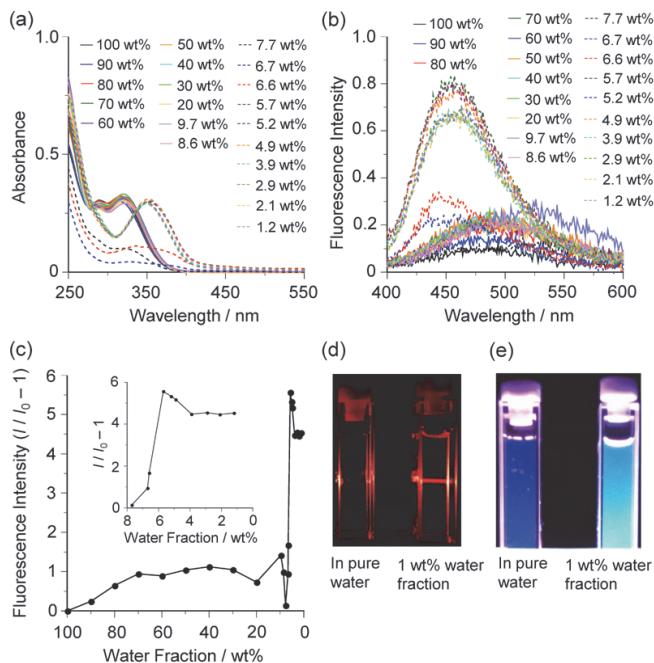


Fig. 1 (a) Absorption and (b) fluorescence spectra ($\lambda_{\text{ex}} = 315\text{--}355$ nm) of **WS-TPE** ($c = 2.0 \times 10^{-5}$ M) in water-THF mixture (1–100 wt% for water fraction). (c) The plot of fluorescence intensity ($I/I_0 - 1$) against water fraction. (d) Tyndall scattering and (e) fluorescence color images of **WS-TPE** in pure water and the water-THF mixture with 1 wt% water fraction; inset in (c): the plot of fluorescence intensity against water fraction in the range of 7.7 wt% to 1.2 wt%.

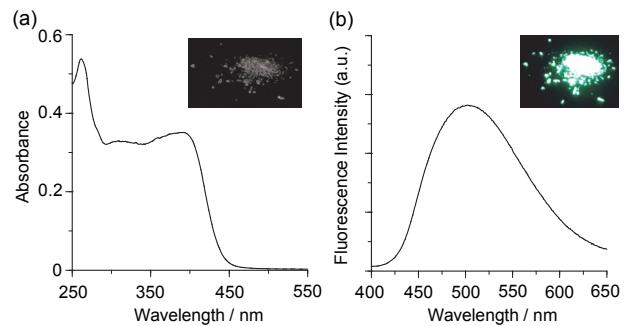


Fig. 2 (a) Solid-state UV-Vis diffuse reflection-absorption spectrum and (b) fluorescence spectrum ($\lambda_{\text{ex}} = 350$ nm) of as-recrystallized **WS-TPE**; inset: (a) color and (b) fluorescence color images of as-recrystallized **WS-TPE**.

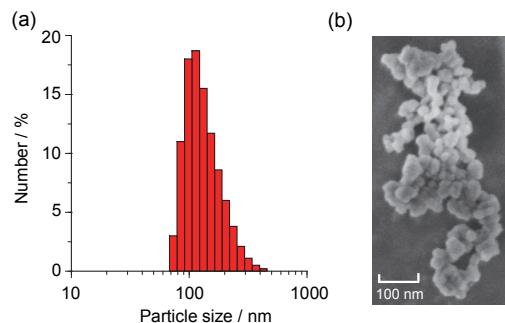


Fig. 3 (a) DLS of **WS-TPE** in the THF solution with 1 wt% water fraction. (b) SEM images of the substance of **WS-TPE** obtained from the THF solution with 1 wt% water fraction.

・研究成果2

ピリジン-ホウ素錯体**YNI-2-BF₃**は、**YNI-2-BF₃**を三フッ化ホウ素ジエチルエーテル (BF₃-OEt₂) で処理することで合成した (Fig. 1)。合成した**YNI-2-BF₃**の構造決定は、¹H NMR, ¹¹B NMR, FT-IR、高性能質量分析 (HRMS) および熱重量示差熱分析 (TG-DTA) から行った。

アセトニトリル中の光吸収スペクトル測定から (Fig. 2)、**YNI** と **YNI-2-BF₃** は、それぞれ 375 nm ($\epsilon=49300 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) と 450 nm ($\epsilon=47300 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) に電子供与性のカルバゾール部位から電子求引性のピリジル基あるいはピリジン-BF₃部位へのICTに由来する強い光吸収帯を示した。さらに、**YNI** に比べて、**YNI-2-BF₃** の ICT 帶は 75 nm ほど長波長側に出現しており、この結果は、ピリジン-BF₃ 部位がピリジル基よりも強い電子求引性に起因している。対応する蛍光スペクトルにおいて、**YNI** は 465 nm に蛍光極大($\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}$)を示し、 Φ_{fl} は 0.6 であった。一方、**YNI-2-BF₃** は 485 nm 付近に微弱な蛍光発光帯を示したが、これは、アセトニトリル中の微量水分による **YNI-2-BF₃** の分解に伴う **YNI-2** の形成に起因している。

YNI-2-BF₃ のアセトニトリル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、**YNI-2-BF₃** の ICT 帯に由来する 450 nm 付近の光吸収帯が減少し、**YNI-2** の ICT 帯に由来する 360 nm 付近の光吸収帯が増大した (Fig. 3)。360 nm 付近の光吸収帯は、約 3.0 wt% 以上の水分量で飽和に達したが、0.0139 wt% (無水) ~40 wt% の水分領域において光吸収スペクトルに等吸收点は存在していなかった。等吸收点の不在は、化学平衡において 3 種あるいはそれ以上の化学種が存在することを示している。一方、対応する蛍光スペクトルにおいて、3.0 wt% 以下の水分領域では 485 nm 付近の蛍光発光帯が増大し (Fig. 4a)、その後 4.0 wt% 以上の水分領域では 485 nm 付近の蛍光発光帯は 10 nm ほどの長波長シフトを伴い減少した (Fig. 4b)。さらに、**YNI-2-BF₃** のアセトニトリル溶液中の水分量増加に伴う蛍光発光量子収率測定を行ったところ、 Φ_{fl} 値と蛍光強度に良い相関性が見られた (Fig. 4c, 4d)。

この結果は水分量の増加に伴う **YNI-2-BF₃** の ICT 特性の変化についてた。

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をプロットした (Fig. 4e)。その結果、約 3.0 wt% 以下の低水分領域では 485 nm 付近の蛍光強度が増大し、水分量に対する最大蛍光強度 ($\lambda_{\text{max}}^{\text{em}} = \text{ca. } 485 \text{ nm}$) のプロットは、良い直線性を示し (相関係数 $R^2 = 0.99$)、直線の傾き (m_s) は 56 であった。 m_s とプランクの標準偏差 (σ) から、**YNI-2-BF₃** のアセトニトリル中における水分量の検出限界 ($DL = 3.3\sigma/m_s$) を算出した結果、 $DL = 0.06 \text{ wt\%}$ であった。このことから、**YNI-2-BF₃** は、これまでに報告された PET 型および ICT 型蛍光性水センサーと同程度の水分検出能を有していることがわかった。一方、3 wt% ~ 40 wt% の中水分領域では、485-495 nm 付近の蛍光強度が緩やかに直線的に減少した。実際に、3 wt% ~ 40 wt% の水分量に対する最大蛍光強度 ($\lambda_{\text{max}}^{\text{em}} = \text{ca. } 485-495 \text{ nm}$) のプロットから、 m_s と R^2 は、それぞれ -4.0 と 0.98 であった (Fig. 4f)。

さらに、無水、4.0 wt% および 20 wt% の水分を含有した **YNI-2-BF₃** のアセトニトリル溶液の ¹H NMR 測定から、微量水分領域 (~3 wt%) において **YNI-2-BF₃** は **YNI-2** へと解離し、さらに、3 wt% ~ 40 wt% の中水分領域において、**YNI-2** のピリジル基と水分子間での水素結合による **YNI-2-H₂O** の形成が示唆された (Fig. 5)。

以上の結果から、ICT 型蛍光性水センサーとして開発したピリジン-ホウ素錯体 **YNI-2-BF₃** について、微量水分領域 (~3 wt%) において、無蛍光性の **YNI-2-BF₃** が水分子と接触することで BF₃ が解離し、**YNI-2** の形成に伴って ICT 特性が変化することで蛍光強度が急激に増大することが明らかとなった (Fig. 6)。さらに、3 wt% ~ 40 wt% の中水分領域において、**YNI-2** のピリジル基と水分子での水素結合の形成 (**YNI-2-H₂O**) により ICT 特性が再度変化することで、蛍光波長の長波長シフトと蛍光強度の緩やかな減少が観測された。本研究成果から、ICT 特性を有するピリジン-ホウ素錯体が、低水分領域から高水分領域にわたる溶媒中の水分を研究可能な比色および蛍光性センサーとして機能することを見出すことができた。

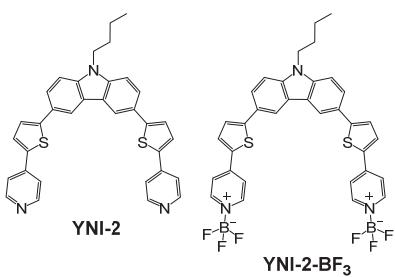


Fig. 1 Chemical structures of D-(π -A)₂ fluorescent dye YNI-2 and D-(π -A)₂-type pyridine-boron trifluoride complex YNI-2-BF₃.

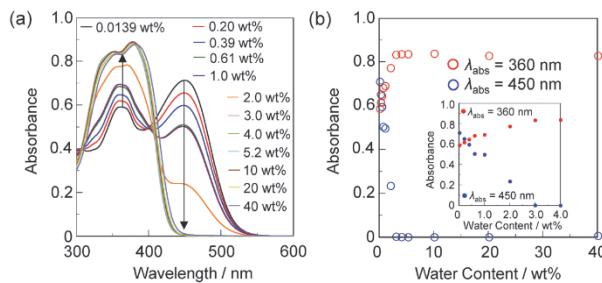


Fig. 3 (a) Photoabsorption spectra of YNI-2-BF₃ ($c = 2.0 \times 10^{-5}$ M) in acetonitrile containing water (0.0139–40 wt%). (b) Absorbance at 360 nm and 450 nm of YNI-2-BF₃ as a function of water content (0.0139–40 wt%) in acetonitrile; inset in (b): absorbance at 360 nm and 450 nm of YNI-2-BF₃ as a function of water content in acetonitrile in a water-content region below 4.0 wt%.

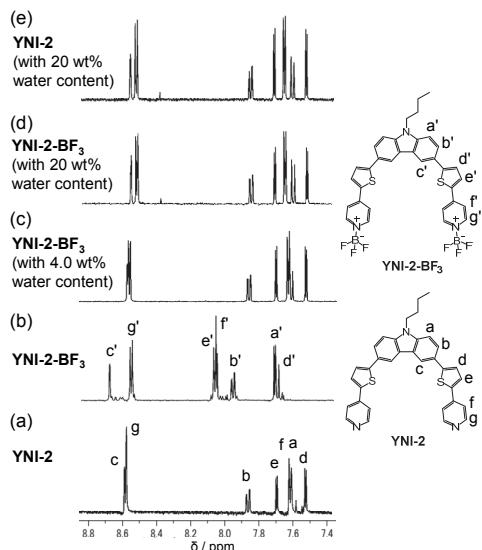


Fig. 5 ^1H NMR spectra of (a) YNI-2 and (b) YNI-2-BF₃ in acetonitrile-d₃. ^1H NMR spectra of (c) YNI-2-BF₃ in acetonitrile-d₃ with (c) 4.0 wt% water content and (d) 20 wt% water content, and (e) YNI-2 in acetonitrile-d₃ with 20 wt% water content.

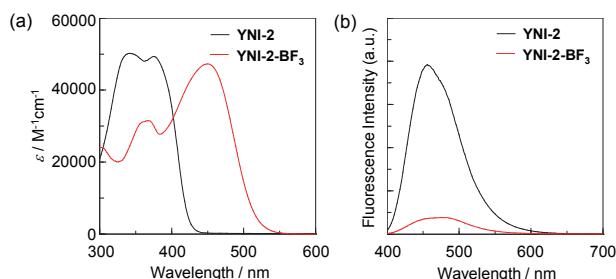


Fig. 2 (a) Photoabsorption and (b) fluorescence ($\lambda_{\text{ex}} = 375$ nm for YNI-2 and 368 nm for YNI-2-BF₃, respectively) spectra of YNI-2 and YNI-2-BF₃ in acetonitrile.

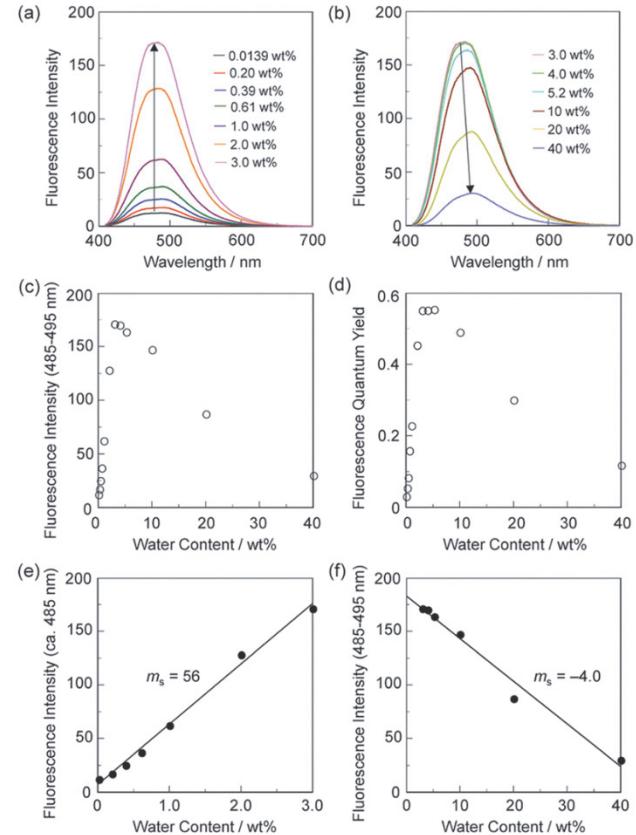


Fig. 4 Fluorescence spectra of YNI-2-BF₃ ($c = 2.0 \times 10^{-5}$ M) by photoexcitation at 400 nm in acetonitrile containing water content of (a) 0.0139–3.0 wt% and (b) 3.0–40 wt%. (c) Fluorescence peak intensity at 485–495 nm and (d) fluorescence quantum yield of YNI-2-BF₃ by photoexcitation at 400 nm as a function of water content (0.0139–40 wt%) in acetonitrile.

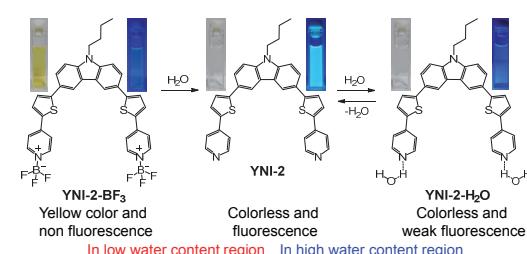


Fig. 6 Proposed mechanisms of colorimetric and fluorescent sensor YNI-2-BF₃ for the detection of water in solvent; inset: color (left) and fluorescence color (right) images.