

令和元年6月14日現在

機関番号：13902

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K04865

研究課題名(和文) 外部電場で配列させた金ナノロッドによるプロトン移動反応のプラズモン誘起蛍光増強

研究課題名(英文) Plasmon-induced fluorescence enhancement of proton transfer reactive molecules in the vicinity of gold nanorods arrayed by an external electric field

研究代表者

日野 和之 (HINO, Kazuyuki)

愛知教育大学・教育学部・准教授

研究者番号：60362307

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：ポリマー結合金ナノロッド-ジメチルアミノヒドロキシフラボン(DMHF)複合体を調製し、その電場吸収および小角X線散乱測定を行った。ロッド-DMHF分子間距離を数nm～数十nmの範囲で調節できた。電場を印加するとプラズモン吸収強度の増減が観測された。ナノロッドの体積が大きくなるほど、電場相互作用が大きくなることが分かった。電場強度に応じて、集合構造がテトラゴナルからヘキサゴナルへと相転移し、蛍光増強の可能性のあることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

金ナノロッドを電場方向に一定間隔で配列させ、間隙に発生するプラズモン増強電場によって、ドーブしたプロトン移動反応分子の蛍光増強を調べた。蛍光強度比が外部電場に依存する性質を活かした点は、学術的に大変興味もたれる。外部環境に敏感に反応する二重蛍光性の分子を使って、ナノ構造体の光学特性を明らかにする方法は、この分野に新しい展開を与え、例えばナノロッドの細胞導入による蛍光イメージングへつながるなど、医療の発展に寄与する社会的意義をもつ。

研究成果の概要(英文)：Polymer-capped gold nanorod-dimethylaminohydroxyflavone (DMHF) composite was prepared and its field-applied absorption and small-angle X-ray scattering measurements were performed. The rod-DMHF intermolecular distance can be adjusted in the range of several nm to several tens of nm. When an electric field was applied, an increase in transverse and decrease in longitudinal plasmon absorption intensity was observed. It was found that the larger the volume of the nanorods, the stronger the electric field interaction. Depending on the electric field strength, it was revealed that the aggregate structure showed a phase transition from tetragonal to hexagonal and there was a possibility of fluorescence enhancement.

研究分野：クラスター科学

キーワード：金ナノロッド 外部電場 プロトン移動 プラズモン 蛍光増強

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 棒状のナノ粒子である金ナノロッドは、プラズモン吸収や増強電場を反応場やセンサー材料として利用するために、その集合構造の制御に強い関心もたれている。国外では、ロッド同士を鎖状に化学結合させて、電場・磁場による配向制御が報告されている。国内では、さらに近赤外光の吸収を利用してがん治療やドラッグデリバリーへと展開している。我々はこれまでに、金ナノロッドに外部電場を印加することによって電場方向に配列させることを TEM 観察および小角 X 線散乱 (SAXS) 測定により追究してきた。電場配向性を上げるために、ソフトな分子間相互作用を示すポリスチレンチオール (平均分子量 50000) を結合させた金ナノロッドが、溶液中で電場を印加すると吸収スペクトルの変化から電場方向に配列することが確認された。すなわち、ロッドの短軸と長軸に依存して 2 つの波長に現れるプラズモン吸収が、電場強度を上げると短波長側の吸収強度が増大し、長波長側の吸収強度が大きく減少した (図 1)。ポリマー結合金ナノロッドの配向性の高さは、試料溶液を滴下して蒸発固定した TEM 像からも推察された (図 2)。ロッドが溶液の流れの方向に沿って並び合っており、ロッド間間隔が約 30 nm でほぼ一定である。さらに、このポリマー結合金ナノロッドに電場を印加すると、電場と同じ方向で観測した SAXS 強度が電場強度に応じて減少した。これは、散乱断面積が小さいロッド末端面が電場方向に配向することを意味する。

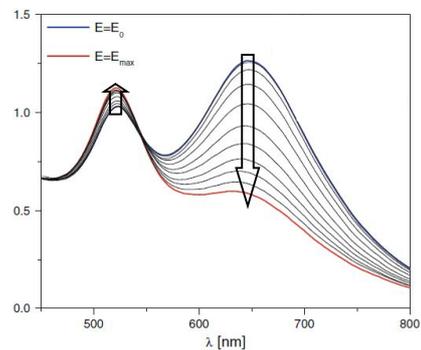


図 1 金ナノロッドの電場吸収スペクトル

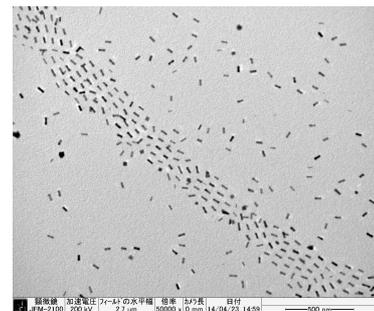


図 2 金ナノロッドの TEM 像

(2) 一方、我々は光励起により分子内プロトン移動反応を示すジメチルアミノヒドロキシフラボン (DMHF) を対象に分光測定を行ってきた (図 3)。プロトン移動前の状態 (N^+) から放出される蛍光に比べて、プロトン移動後の状態 (T^+) から放出される蛍光は著しく長波長シフトしており、2 つの蛍光バンドが同時に観測される (二重蛍光)。 N^+ と T^+ 蛍光の強度比は、分子の置かれた物理化学的環境に強く依存し、細胞膜の膜電位や界面活性剤分子の集合構造変化に対するセンサーとしての研究が進められている。最近、DMHF をポリマー薄膜中にドーピングして外部電場を印加したところ、 N^+ 蛍光が増加し、 T^+ 蛍光が減少した。これは、プロトン移動反応を電場によって抑制できたことを意味する。蛍光強度比を使えば、逆に分子が感じた電場の強度を高い再現性で求めることができる。

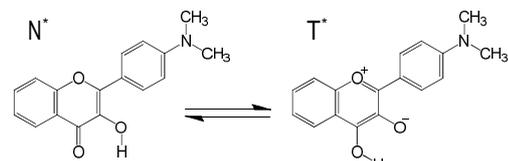


図 3 DMHF の分子内プロトン移動反応

2. 研究の目的

現在までに、金ナノ粒子のプラズモン効果を利用した近傍分子の表面増強ラマン散乱 (SERS) 現象は数多く報告されているが、蛍光現象に対するプラズモン効果は、プラズモンによる蛍光増強と金属へのエネルギー移動による消光過程が競合するため十分に解明されていない。そこで我々は、ナノロッドの配列構造で増強されるプラズモン電場を利用して、ロッド間の隙間にドーピングされた DMHF の蛍光強度を増大させることを着想した。蛍光増強に対するロッド - 分子間距離依存性を明らかにし、 N^+ / T^+ 蛍光強度比から *in situ* で電場の増強度を求め、蛍光寿命測定から蛍光増強と消光過程の速度を見積り、そのメカニズムを解明することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

(1) はじめに、ポリマー結合金ナノロッド - DMHF 複合体を調製し、その電場吸収および SAXS 測定を行う。このとき、アスペクト比 ($AR = \text{長軸の長さ} / \text{短軸の長さ}$) を 2, 4, 6, 8 と変え、ポリマー分子量を 700 ~ 50000 と変えた試料を用意する。これにより、ロッド - DMHF 分子間距離を数 nm ~ 数十 nm の範囲で調節できる。電場を印加するとプラズモン吸収強度の増減が観測されるだけでなく、光源に直線偏光を用いると、吸収強度の偏光角依存性から偏光異方性を求められる。この値は、ナノロッド試料が異方的に配列する場合に増大する。

(2) 一方、外部電場を印加して、1 次元配列だけでなく、2 次元や 3 次元の配列が達成されれば、その周期的な積層間隔に対応した SAXS 信号が得られる。これを距離分布関数により解析してロッドの配向度を算出する。以上により、プラズモン吸収の偏光異方性と合わせて電場配向の AR およびロッド - 分子間距離依存性を議論する。

(3) 同時に、電場蛍光スペクトルを観測する。はじめに共鳴条件で N^+/T^+ 蛍光強度比から in situ での電場増強度、ならびに蛍光増強度をロッド - DMHF 分子間距離を変えて求める。これまでに、金ナノ粒子にシリカを厚みを変えてコーティングした系で蛍光増強現象が検討されている。この粒子 - 蛍光分子間距離 (d) に対する蛍光増強度は、特に $d=10$ nm 以下で励起波長に大きく依存することが報告されている。すなわち、電場強度は励起波長がプラズモン吸収に共鳴しているかそうでないかに依存する。一方で、金ナノロッドを基板の上に歯ブラシのように整列させて固定したナノ構造体について、ローダミン 6G 分子の蛍光増強現象がごく最近報告された。この中で、蛍光増強度は $d=10$ nm 以下で励起波長がプラズモン吸収よりも短波長側にあっても金の価電子帯から伝導帯へのバンド間遷移に対応していれば、プラズモン吸収に共鳴していなくても同様に蛍光増強効果が現れると考察している。さらに、この系で蛍光増強度が最大になるのは $d=30$ nm と見積もられている。我々の系は、ロッド同士が数珠つなぎ状につながってプラズモン電場の協同効果が現れると期待される。したがって、蛍光増強度のロッド - DMHF 分子間距離依存性を詳細に検討する。

4. 研究成果

(1) 今回、オレイン酸ナトリウム-セチルトリメチルアンモニウムブロミド (NaOL-CTAB) 系の 2 成分界面活性剤を用いたシード成長法によって金ナノロッドを作製することで、これまでの作製方法よりも形状やサイズの均一性を向上させることができた。

(2) 図 4 に、AR4ポリマー結合金ナノロッドの SAXS プロファイルの電場変化を示す。電場強度の増加に対応して SAXS 強度の系統的な減少を観測した。電場 OFF 後に、SAXS プロファイルは大きく変化し、ナノロッドが蜂の巣状に配置したヘキサゴナル構造に対応するピークを確認した ($q_1:q_2:q_3=1: 3:2$)。その後、時間とともに SAXS 強度は回復した。一方、この試料のトルエン溶液を TEM グリッドに滴下して固定し、TEM 観察を行った。その結果、金ナノロッドが溶液の流れに沿って層状に並び合ったスメクチック配向を確認した。これらを合わせて考えると、外部電場の印加により、トルエン溶液に均一に分散していた金ナノロッドが中心から周りに拡がり、電場を切って再び分散するときにヘキサゴナル集合構造を形成し、スメクチック配向をとる。その後拡散により集合構造は消失すると考えられる。

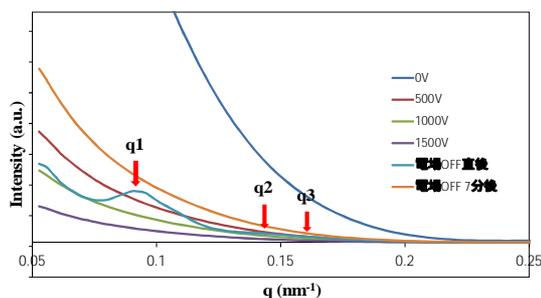


図 4 AR4 金ナノロッドの SAXS プロファイルの電場変化

(3) ここで、我々が使用してきた電場セルは試料の注入部が開いていることとバッチ型であるため、様々な問題点があった。そこで、これらの問題点を改良・改善するために、分子研装置開発室施設利用 (ナノプラット) によりガラス流路を作製した (図 5)。セルを閉じた形にできたため、揮発性のトルエン溶液試料でも長時間の電場測定が可能となった。加えて、ITO 膜をガラス基板の端から少し控えて成膜したことにより、1500 V の高電圧を印加してもショートのリスクを減らすことに成功した。また、フロー型であるので、長時間の測定でも試料へのダメージを抑えられる改良が期待でき、試料の回収も可能となった。最も大きな改善点は、電場強度の向上である。我々がこれまでに用いていた電場セルでは、2 枚の ITO ガラス電極 (厚み: $150 \mu\text{m} \times 2$) で溶液層 (厚み: $300 \mu\text{m}$) を挟んで最高電圧 1500 V をかけていた。したがって、最大電場強度は $1500 \text{ V}/600 \mu\text{m} = 2.5 \text{ V}/\mu\text{m}$ であった。一方、今回開発した電場セルでは、ガラス基板に直接溶液槽を作製しているため、電場強度は同じ印加電圧でも $1500 \text{ V}/300 \mu\text{m} = 5.0 \text{ V}/\mu\text{m}$ と単純に倍増させることができた。さらに、ショートのリスクを減らしたことから、印加電圧を 1500 V 以上に上げることが可能である。

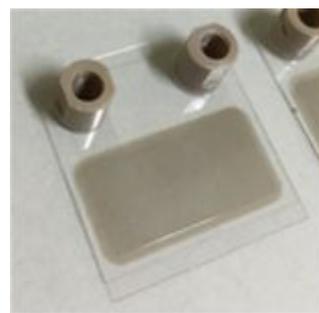


図 5 フロー型電場セル

(4) 図 6 に AR2ポリマー結合金ナノロッドトルエン溶液の吸収スペクトルの電場変化を示す。電場強度を上げると、短軸のプラズモン吸収ピークはわずかに増大し、長軸のプラズモン吸収ピークは大きく減少した。また、電場を切ると元の吸光度まで回復した。AR2, 4, 6 のスペクトルを比較すると、AR が小さくなる、つまり短軸の長さが大きくなるほど小さな電場強度で短軸ピークの増大と長軸ピークの減少を確認し、電場 OFF 後の緩和時間が長くなることが分かった。一方、試料への電場印加時間を長くするほど、電場 OFF 後の緩和時間が長くなることが分かった。このことから、ナノロッドに電場との相

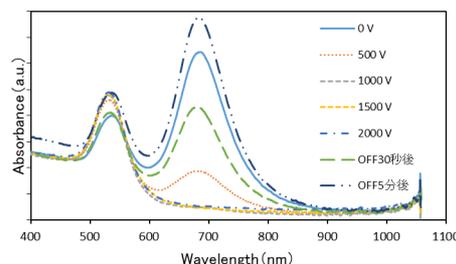


図 6 AR2 金ナノロッドの吸収スペクトルの電場変化

相互作用が長くはたらくことで、電場を切っても一定方向に並び続けるのではないかと考えている。

(5) SAXS強度は、散乱体の形状や分散度に基づく形状因子と、粒子間の干渉を表す構造因子の積で与えられる。各印加電圧のときの散乱プロファイルを印加していない場合のプロファイルで割り算をすることにより、構造因子を取り出した。その結果、 $q_1:q_2:q_3=1:2:2$ に対応するテトラゴナル集合構造(図7)をはじめて確認した。さらに、電場強度を大きくすることで、ヘキサゴナル集合構造(図8)への相転移を発見し、より密にパッキングする可能性があることを見出した。ナノロッドの集合が液晶分子のような振る舞いを示していると考えられる。

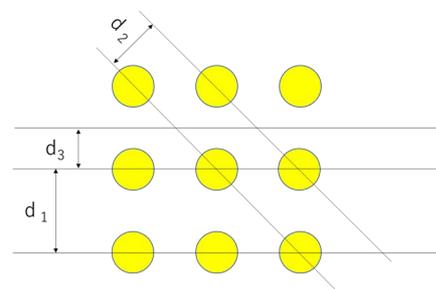


図7 テトラゴナル集合構造

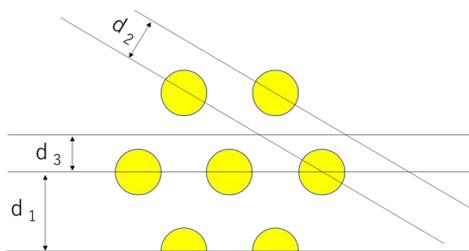


図8 ヘキサゴナル集合構造

(6) 金ナノ粒子 - DMHF分子間距離を厳密に制御するために、DMHFを炭素鎖長(Cn)のスペーサーを介してチオール化し、球状金ナノ粒子に結合させた。このとき、粒子サイズを変えて複合体を作製した。すべてのサイズの複合体はジメチルホルムアミド(DMF)に溶解したため、DMF溶液で蛍光測定を行った。図9に粒径2 nm, 5 nm, 20 nmの粒子にC8チオールを結合した複合体ナノ粒子の380 nm励起の蛍光スペクトルを示す。蛍光極大は480 nmに現れた。C8チオール単体に対して、蛍光強度は粒径が2 nm, 5 nm, 20 nmの順に大きく減少することが分かった。また、粒径2 nmの粒子にそれぞれC5, C8, C10チオールを結合した複合体ナノ粒子の蛍光スペクトルから、蛍光強度はアルキル鎖長がC10, C8, C5の順に大きく減少することが分かった。このことから、粒子サイズがより大きくなるほど、また、スペーサー距離がより小さいほど、蛍光強度が大きく減少する。これは、粒子と蛍光発色団がより接近するほど励起エネルギー移動や重原子効果が大きくなるためと考えられるが、柔軟である炭素鎖の折れ曲がり、凝集の可能性も考えられる。アルキル鎖長と粒子サイズの組み合わせによって蛍光増大が消光に勝る可能性があると考えられる。

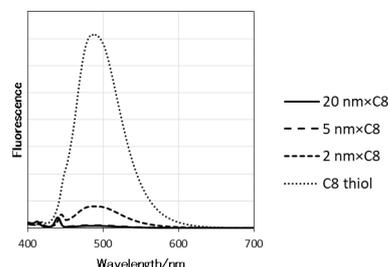


図9 C8チオールが結合した複合体の蛍光スペクトル

一方、複合体ナノ粒子のDMF溶液に緩衝溶液を少量加えると粒子の沈殿や塩の析出が見られた。それに対して、エタノール溶液では緩衝溶液を加えても十分に溶解したままであった。そこで、今回は粒径20 nm以上の粒子についてpHによる分散・凝集状態の調査を行うことにした。図10に粒径20~30 nmの複合体粒子のエタノール溶液の吸収スペクトルと5種類の緩衝溶液を加えた場合の吸収スペクトルを示す。エタノール溶液の吸収極大は約580 nmであるのに対して、pH3, pH7, pH11の溶液の場合には、吸収極大が約680 nmまで長波長シフトした。これらの溶液をTEM観察すると、粒子同士が凝集していることが確認できた。また、凝集状態に塩酸や水酸化ナトリウム水溶液を加えることで吸収ピークが短波長シフトして、再び分散状態に変化することを確認できた。この分散・凝集状態の変化の起源は、フラボノイド分子のアミノ基やカルボニル基にプロトンが脱着することで金ナノ粒子表面の電荷のバランスが崩れて、粒子間に引力が働いて凝集すると考えている。

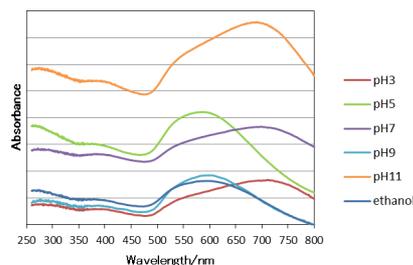


図10 C3チオールが結合した複合体の吸収スペクトルのpH変化

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計3件)

Yoshikiyo Hatakeyama, Koh Sasaki, Ken Judai, Keiko Nishikawa, Kazuyuki Hino, Growth Behavior of Gold Nanorods Synthesized by the Seed-Mediated Method: Tracking of Reaction Progress by Time-Resolved X-ray Absorption Near-Edge Structure, Small-Angle X-ray Scattering, and Ultraviolet-Visible Spectroscopy, The Journal of Physical Chemistry C, 査読有, 122巻, 2018年, 7982~7991
DOI:10.1021/acs.jpcc.8b00016

日野和之, ガラス製フロー型電場セルの開発と電場印加による金ナノロッドの集合構造の形成, 分子科学研究所 装置開発室 Annual Report 2017, 査読無, 2018年, 12~13

Kazuki Furukawa, Norifumi Yamamoto, Kazuyuki Hino, Hiroshi Sekiya, Excited-state intramolecular proton transfer and conformational relaxation in 4'-N,N-dimethylamino-3-hydroxyflavone doped in acetonitrile crystals, Physical Chemistry Chemical Physics, 査読有, 18巻, 2016年, 28564-28575
DOI:10.1039/c6cp04322d

〔学会発表〕(計8件)

深川記壮, 熊谷真那, 田島諒, 山口佳大, 日野和之, 畠山義清, SAXS profiles for the ordered structure of polymer-capped gold nanorods induced by an external electric field, 日本化学会第99春季年会, 2019年

深川記壮, 熊谷真那, 日野和之, 畠山義清, ポリマー結合金ナノロッドの電場印加による集合構造の変化, 第8回CSJ化学フェスタ2018, 2018年

深川記壮, 熊谷真那, 日野和之, 畠山義清, CTAB/EG密度勾配を用いた金ナノロッドの遠心精製と電場印加による集合構造の形成, 第12回分子科学討論会, 2018年

日野和之, 角田恵理, 西尾ふみね, 藤田あおい, 柴田るり子, フラボノイド化合物を結合させた球状金ナノ粒子の合成と分散・凝集状態の制御, 第12回分子科学討論会, 2018年

日野和之, 田中裕明, 稲垣池穂, 畠山義清, 循環型電場セルの開発と電場印加によるポリマー結合金ナノロッドの集合構造の形成, 第11回分子科学討論会, 2017年

古川一輝, 山本典史, 日野和之, 関谷博, アセトニトリル結晶中における4'-N,N-dimethylamino-3-hydroxyflavoneの励起状態ダイナミクス, 第10回分子科学討論会, 2016年

畠山義清, 森田剛, 佐々木昂, 十代健, 西川恵子, 日野和之, シード法により調製される金ナノロッドの成長過程追跡, 第10回分子科学討論会, 2016年

日野和之, 森川功規, 鬼塚久生, 畠山義清, 電場誘起によるポリマー結合金ナノロッドのヘキサゴナル集合構造の形成, 第10回分子科学討論会, 2016年

〔その他〕

ホームページ等

<http://www2.chem.aichi-edu.ac.jp/chem/chemistry.html>

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。