

令和 6 年 6 月 21 日現在

機関番号：82121

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05121

研究課題名（和文）ESIPT型蛍光プローブを用いた水素結合力定量分析法の構築

研究課題名（英文）Fluorescence detection of hydrogen-bonding strength using ESIPT-type fluorescent probe

研究代表者

阿久津 和宏 (Akutsu, Kazuhiro)

一般財団法人総合科学研究機構・中性子科学センター・副主任技師

研究者番号：60637297

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：水素結合は極性と指向性を併せ持つ唯一の化学結合であり、有機化合物、特にタンパク質や高分子などの巨大かつ複雑な分子では3次元構造形成において重要な働きを担う重要な結合である。本研究では、蛍光分子2-(2'-hydroxyphenyl)benzimidazole (HBI)を用いた水素結合力分析法の基礎的な方法論を確立した。更に、材料表面界面におけるナノ構造分析法として有力な手法である中性子反射率法と本手法を組み合わせた、蛍光-中性子反射率同時測定法を確立した。最終的に、同時測定法により薄膜試料の水素結合力と薄膜構造の同時分析が達成できることを実証した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

上記の通り、蛍光-中性子反射率同時測定装置を開発することは、物質の水素結合力とナノ構造の相関に関する理解を深化させることを可能とする。接着剤や繊維強化プラスチックなどの複合材料はそれら材料界面の水素結合力・ナノ構造・機能の相関の解明が重要であり、本研究の成果は水素結合力とナノ構造の直接的な観測を可能にするのみならず、新奇材料の設計・開発にも繋がるものと期待できる。

研究成果の概要（英文）：Hydrogen bonds are the only chemical bonds with polarity and directional character, and are important bonds that play an important role in the formation of three-dimensional structures in organic compounds, especially in large molecules such as proteins and polymers. In this study, we developed the basic methodology for hydrogen bonding strength analysis using the fluorescent molecule 2-(2'-hydroxyphenyl)benzimidazole (HBI). Furthermore, neutron reflectometry (which is a promising method for nanostructure analysis at the material surface and interface) and fluorescence analysis are combined in a method we have developed for simultaneous analysis. We demonstrated the simultaneous analysis of hydrogen bonding strength and thin layer structure of thin film samples using the simultaneous measurement method.

研究分野：分析化学

キーワード：水素結合 中性子反射率 蛍光プローブ HBI 界面

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

水素結合は極性と指向性を併せ持つ唯一の化学結合であり、有機化合物、特にタンパク質や高分子などの巨大かつ複雑な分子では 3 次元構造形成において重要な働きを担っている。また、水素結合は物質の粘度、表面張力、電気伝導度などの諸物性にも大きく関与している。従って、簡易かつ精度の高い水素結合分析を開発することは、水素結合の直接的な観測を可能にするのみならず、新奇材料の設計・開発にも繋がる。

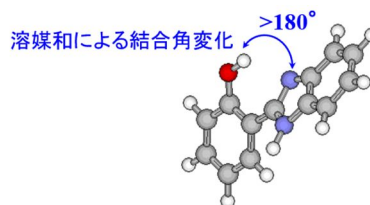
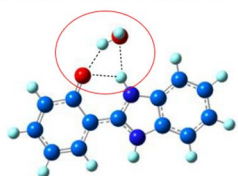
我々は、これまでの研究で微量の蛍光分子 2-(2'-hydroxyphenyl)benzimidazole (HBI) を溶液または高分子内に導入すると、HBI の発光波長が物質の Hansen Solubility Parameter (溶解度パラメーター, HSP) の δ_H 値 (水素結合力を現す値, 単位は $\text{MPa}^{0.5}$) に比例して変化することを見出し、その水素結合定量分析法への応用を目指している。水素結合力の分析手法は、近年では ^1H NMR、赤外分光法、X 線吸収分光法などによる手法開発が積極的に検討されている。一方、HBI による蛍光分析法は測定条件の高い自由度 (試料セル、濃度など) やリアルタイム観察が可能といった利点があることから、それらと比較してより実用的な水素結合研究に活用できる点で優れている。現在までに、蛍光プローブの量子収率や蛍光寿命が水素結合に比例して変化する現象はいくつか報告されているが、水素結合力の分析法としての応用は達成されていない。

2. 研究の目的

本研究の最も重要な課題は、HBI による水素結合分析の基礎的な方法論を構築することである。HSP の δ_H 値と HBI の発光波長の間には良い相関係数 ($R=0.97$) があり、HBI の添加は物質全体の性質 (水素結合) には大きな影響を及ぼすことなく、バルク内で作用する水素結合を捉えていることが示されている。一方で、なぜ、添加された HBI の発光波長と物質の水素結合が比例関係にあるのか、については明らかになっておらず、また、水素結合定量分析技術としての有用性は十分には実証されていない。

申請者は、量子化学計算等を駆使した研究により HBI の O-H...N 部位が基底・励起状態で溶媒分子と結合を形成していることを見出し、励起状態における分子内水素結合角 (phenol 面と benzimidazole 面の角度) が周囲の物質との相互作用によって微妙に変化することで、HBI の $\pi\pi^*$ 遷移エネルギー変化 (発光波長シフト) が起こると推測している。従って、単結晶や極低温状態のように HBI 分子が回転できないほどに固定されている場合を除き、微量の HBI を物質内部に導入してその蛍光スペクトルを測定することで、物質内部の水素結合力の分析が可能であると断定できる。

溶媒(水分子)との相互作用形成の例



構造最適化_プロトン性極性溶媒中

図 1. HBI の溶媒和構造 (左) と溶媒和による結合角変化のイメージ図 (右)

本研究では、溶液から固体まで様々な試料を用いた分光分析実験により、HBI の水素結合分析としての有用性を実証するとともに、高い疎水性を有する HBI に官能基を導入することで、水溶性などの機能を付与する。なお、HBI の置換基導入効果については先行研究 [K. Akutsu *et al.*, *Talanta*, **146**, 575 (2016)] において詳細に調べており、その知見を基に適切な官能基導入を行う。また、高分子等の固体試料への HBI の適切な導入量・方法も並行して検証する。加えて、材料表面界面におけるナノ構造分析法として有力な手法である中性子反射率法と本手法を組み合わせた、材料の構造・機能・水素結合力の多角的な研究法の開発を行う。異種材料の界面においてはアンカー効果のような構造に由来する力も重要となるが、物質界面と呼ばれる領域は非常に小さく、その詳細な研究は困難を極める。本研究では、異種材料界面において重要な 2 つの因子である水素結合と界面ナノ構造の同時評価を可能とする、蛍光-中性子反射率同時測定装置を開発し、多角的な物質研究の道を開拓する。

3. 研究の方法

本研究のゴールは、HBI の水素結合分析としての有用性の実証とその応用であり、そのために必要な基礎データの収集や試料合成、更には蛍光-中性子反射率同時測定装置の開発を行う。具体的な方法としては、以下の 4 つを実施する。

1) 分光分析実験による HBI の水素結合能力分析精度の分析

HSP の δ_H 値が明らかとなっている溶媒及び高分子試料 [Charles M. Hansen: *Hansen Solubility Parameters: A user's Handbook* (CPC Press, New Yoak, 2007) 2nd ed.] に HBI を導入し、その発光波長変化を調べることで HBI の水素結合能力分析精度を明らかにする。高分子試料に関しては、HBI の適切な導入方法の検証も行う。

2) HBI への官能基導入と発光特性の解析

HBI は疎水性が高く、水にはほとんど溶解しない。即ち、ポリビニルアルコールやデンプンなどの水溶性高分子への導入も困難を極める。そこで、高い疎水性を有する HBI に親水性の官能基を導入することで、HBI に水溶性などの機能を付与する。これにより、多種多様な試料への HBI の導入を可能にする。

3) 中性子実験用試料の重水素化

中性子反射率実験では、材料表面界面及び薄膜のナノ構造を分析できるが、構造をより精密に分析するためには試料を同位体(重水素)でラベル化する事が望ましい。本研究では、分析対象となる材料及び HBI の重水素化技術を開発し、中性子実験に用いることで、試料のナノ構造を詳細に解析する。

4) 蛍光-中性子反射率同時測定装置の開発と実試料を用いた構造・水素結合力の同時分析

蛍光-中性子反射率同時測定装置の開発では、J-PARC MLF(東海村)に設置されている中性子反射率計「写楽」に蛍光スペクトル測定用の試料環境機器を導入することで、蛍光スペクトルと中性子反射率の同時測定を実現する。中性子反射率計には中性子ビーム形成のためのビームスリットなどが設置されており、蛍光スペクトル装置そのものを設置・使用することは困難を極める。そのため、蛍光スペクトルの測定用の光ファイバー反射率計に取り付けることで両方のスペクトルデータの効率的な取得を達成する。同時測定装置の導入後は、接着剤や繊維強化プラスチックなどに利用されているポリビニルアルコールを使った蛍光/中性子反射率同時測定実験を実施する。

上記の 4 つの課題を順次クリアすることで、HBI の水素結合能力分析法としての有用性の実証と分析法の方法論を確立する。加えて、本研究で開発した蛍光-中性子反射率同時測定装置を用いた水素結合能力と界面ナノ構造の同時分析を実施し、材料研究への応用を進める。

4. 研究成果

まず始めに、上記の 4 つの研究項目に関する成果を説明する。

1) 分光分析実験による HBI の水素結合能力分析精度の分析

各種溶媒及び高分子試料に HBI を導入し、その発光波長及び励起波長の変化を調べた。図 2 にその結果の一部を示す。

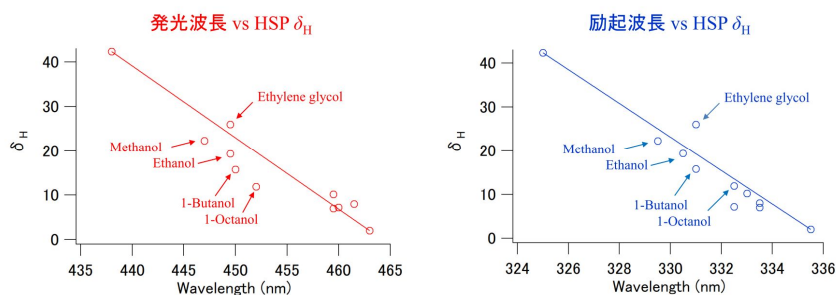


図 2. 各溶媒中における HBI の発光波長(左)・励起波長(右)と HSP δ_H のプロット図。

発光波長と HSP δ_H 値の相関を見ると、アルコール系の溶媒は相関関係低く、水素結合力を正確に検出できていないことが示された。励起波長と HSP δ_H 値の相関を見ると、アルコール系の溶媒は相関関係が高いのに対して、エチレングリコールは相関関係は低くなる。この現象の詳細については現在も不明であるが、R-OH 部位を含んでいる物質の水素結合能力分析には、励起波長を使った分析がより適している可能性がある。

一方、高分子試料への HBI の導入に関しては、ポリマー分子 100~5000 個に対して 1 分子の HBI を添加すると適切な蛍光スペクトルが得られることが明らかとなった。また、HSP の δ_H 値と HBI の発光波長・励起波長の間には良い相関関係があり、これは溶液試料の場合と同様の傾向であった。なお、高分子内の HBI の濃度が低すぎる場合は HBI の OH 基が脱プロトン化し、違う化学種の蛍光が主となるため、水素結合能力の分析は困難になる。

2) HBI への官能基導入と発光特性の解析

HBI は、Phenol 部位と Benzimidazole 部位のどちらにも官能基の導入が可能であるが、本研究では Phenol 部位への官能基の導入を試みた。図 3 に、本研究で合成した HBI 誘導体の化学構造を示す。OH 基及びアミノ基の導入により HBI の親水化を、*tert*-butyl 基の導入により HBI

の疎水化を行った。官能基の導入により HBI の疎水化・親水化は達成されているが、各 HBI 誘導体の発光特性を調べたところ、OH 基を導入した HBI は極性溶媒に溶かすと脱プロトン化による化学種の変化が起こり、水素結合力の分析が困難になることが明らかとなった。これは、官能基導入により OH 基の酸性度が変化し、脱プロトン化を促進したためである。この結果は、官能基導入が水素結合力の分析に必ずしも有利ではないことを示している。

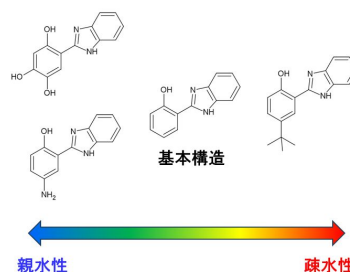


図 3. 本研究で合成した HBI 誘導体の化学構造。

3) 中性子実験用試料の重水素化

次に、中性子反射率実験に使用するための HBI 等の分子の重水素化方法を開発した。HBI の重水素化には、不均一系白金炭素触媒を用いた軽水素/重水素交換反応を用いた。得られた重水素化 HBI の重水素化率は 95%程度であり、中性子反射率実験には十分な重水素化率の HBI を得ることができた。なお、重水素化の前後で HBI の発光特性に大きな変化は見られておらず、従って、重水素化 HBI を中性子反射率実験に使用することに支障は無いことが明らかとなっている。

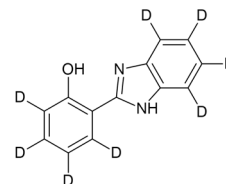


図 4. 重水素化 HBI の化学構造。

4) 蛍光-中性子反射率同時測定装置の開発と実試料を用いた構造・水素結合力の同時分析

蛍光-中性子反射率同時測定装置の開発では、中性子反射率計写楽への分光装置の取り付け治具を製作・設置することで、蛍光スペクトルの測定を可能にした。装置の設置後には、ポリビニルアルコール薄膜試料の蛍光/中性子反射率同時測定実験を実施した。今回製作した取り付け治具では反射率計内で散乱している可視光を完全には遮光できていないため、データのバックグラウンドレベルが高い状態になったが、蛍光スペクトル、中性子反射率ともに解析可能なデータが得られた。図 5 に、ポリビニルアルコール薄膜試料の乾燥/湿潤状態の中性子反射率データを示す。ポリビニルアルコール薄膜内には、微量の HBI が導入されている。ポリビニルアルコール薄膜試料の乾燥/湿潤状態の反射率プロファイルには大きな差がある。各データを fitting 解析した結果、湿潤状態ではポリビニルアルコールの膜厚が 1.5 倍程度膨潤したことが見出された。さらに、同じ試料の乾燥/湿潤状態における HBI の蛍光スペクトルを測定した結果、湿潤状態では乾燥状態と比べて水素結合力が 1.6 倍程度増加している（乾燥状態の HSP δ_H 値は 15.4 MPa^{0.5}、湿潤状態の HSP δ_H 値は 24.0 MPa^{0.5}）ことが確認された。蛍光スペクトルと中性子反射率の分析結果は整合性が取れており、従って、この結果は水素結合力と薄膜構造の同時分析が達成できたことを示していると言える。

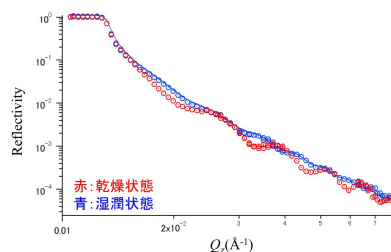


図 5. ポリビニルアルコール薄膜試料の乾燥/湿潤状態の中性子反射率データ。

以上の 1)~4)の結果から、アルコール類などの一部の例外を除き、HBI の発光波長と HSP δ_H 値の間には高い相関関係があり、従って物質内部の水素結合力を正確に検出できていることが示された。また、本研究で開発した蛍光-中性子反射率同時測定装置は異種材料界面において重要な 2 つの因子である水素結合力と界面ナノ構造の同時評価が可能であり、高分子を始めとした材料の水素結合力/ナノ構造の相関の理解を深めることを可能とする新しい技術であると結論付けられる。本研究で開発された新規分析法は、材料の水素結合力とナノ構造の研究に新しい知見をもたらし、学術・産業研究の両面に大きな波及効果をもたらすものと期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kazuhiro Akutsu-Suyama, Norifumi L Yamada, Yuki Ueda, Ryuhei Motokawa, Hirokazu Narita	4. 巻 12
2. 論文標題 New Design of a Sample Cell for Neutron Reflectometry in Liquid-Liquid Systems and Its Application for Studying Structures at Air-Liquid and Liquid-Liquid Interfaces	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Applied Sciences	6. 最初と最後の頁 1215
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/app12031215	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Kazuhiro Akutsu-Suyama, Misaki Ueda, Mitsuhiro Shibayama, Kosuke Ishii, Naoya Nishi	4. 巻 286
2. 論文標題 Effective Synthesis of Deuterated n-Octylamine and Its Analogues	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 EPJ Web of Conferences	6. 最初と最後の頁 1004
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1051/epjconf/202328601004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件/うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Kazuhiro Akutsu
2. 発表標題 Current status of deuteration technologies in CROSS laboratory
3. 学会等名 J-PARC Workshop 2022, Deuterium Science Entering a New Phase（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kazuhiro Akutsu, Misaki Ueda, and Mitsuhiro Shibayama
2. 発表標題 Recent highlights and perspectives on chemical deuteration activities in CROSS
3. 学会等名 European Conference on Neutron Scattering 2023（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Kazuhiro Akutsu
2. 発表標題 Recent Activity_Chemical Deuteration
3. 学会等名 DEUNET Virtual meeting (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 阿久津 和宏、佐原 雅恵、上田 実咲、鈴木 淳市
2. 発表標題 Development of Sample Deuteration and Analysis Systems
3. 学会等名 2021年度量子ビームサイエンスフェスタ
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Kazuhiro Akutsu, Misaki Ueda, and Mitsuhiro Shibayama
2. 発表標題 Current status and issues of chemical deuteration method development
3. 学会等名 日本中性子科学会第23回年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 阿久津 和宏、花島 隆泰、森 聖治
2. 発表標題 蛍光分析法と中性子反射率法を協奏的に利用した界面構造/物性同時計測法の開発
3. 学会等名 2023年度量子ビームサイエンスフェスタ
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	森 聖治 (Mori Seiji) (50332549)	茨城大学・理工学研究科(理学野)・教授 (12101)	
研究 分担者	元川 竜平 (Motokawa Ryuhei) (50414579)	国立研究開発法人日本原子力研究開発機構・原子力科学研究 部門 原子力科学研究所 物質科学研究センター・研究主幹 (82110)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------