

Title	蛍光・磁性デュアル機能性ナノ粒子複合体の創製と特性評価
Sub Title	Preparation and characterization of composites consisting of nanoparticles with dual functions of fluorescence and magnetism
Author	磯部, 徹彦(Isobe, Tetsuhiko)
Publisher	
Publication year	2011
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2010.)
JaLC DOI	
Abstract	紫外光の励起によって赤色に発光するYVO <sub>4</sub> :Bi <sup>3+</sup> , Eu <sup>3+</sup> ナノ粒子を静電的な相互作用を用いてPMMAマイクロビーズへ複合化することを検討した。また、青色光の励起によって緑色に発光するYAG:Ce <sup>3+</sup> ナノ粒子とYAG/YIGコアシェル型磁性ナノ粒子を静電的な相互作用を用いてPMMAマイクロビーズへ複合化させることを検討した。
Notes	研究種目：基盤研究(B) 研究期間：2008～2010 課題番号：20310061 研究分野：複合新領域 科研費の分科・細目：(ナノ・マイクロ科学)・(ナノ材料・ナノバイオサイエンス)
Genre	Research Paper
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_20310061seika">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_20310061seika</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

機関番号：32612

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20310061

研究課題名（和文） 蛍光・磁性デュアル機能性ナノ粒子複合体の創製と特性評価

研究課題名（英文） Preparation and characterization of composites consisting of nanoparticles with dual functions of fluorescence and magnetism

研究代表者

磯部 徹彦 (ISOBE TETSUHIKO)

慶應義塾大学・理工学部・教授

研究者番号：30212971

研究成果の概要（和文）： 紫外光の励起によって赤色に発光する  $\text{YVO}_4:\text{Bi}^{3+}, \text{Eu}^{3+}$  ナノ粒子を静電的な相互作用を用いて PMMA マイクロビーズへ複合化することを検討した。また、青色光の励起によって緑色に発光する  $\text{YAG}:\text{Ce}^{3+}$  ナノ粒子と  $\text{YAG}/\text{YIG}$  コアシェル型磁性ナノ粒子を静電的な相互作用を用いて PMMA マイクロビーズへ複合化させることを検討した。

研究成果の概要（英文）：  $\text{YVO}_4:\text{Bi}^{3+}, \text{Eu}^{3+}$  nanoparticles emitting red under the excitation of ultraviolet light were hybridized with PMMA microbeads through electrostatic interaction. In addition,  $\text{YAG}:\text{Ce}^{3+}$  nanoparticles emitting green under the excitation of blue light as well as  $\text{YAG}/\text{YIG}$  core/shell nanoparticles were hybridized with PMMA microbeads through electrostatic interaction.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	11,600,000	3,480,000	15,080,000
2009年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
年度			
年度			
総計	15,200,000	4,560,000	19,760,000

研究分野： 複合新領域

科研費の分科・細目： (ナノ・マイクロ科学)・(ナノ材料・ナノバイオサイエンス)

キーワード： (1)  $\text{YVO}_4:\text{Bi}^{3+}, \text{Eu}^{3+}$ , (2) ナノ粒子, (3) ナノ蛍光体, (4) 蛍光ビーズ, (5) 交互吸着, (6) PMMA, (7)  $\text{YAG}:\text{Ce}^{3+}$ , (8) YIG

## 1. 研究開始当初の背景

蛍光有機色素を含有した蛍光マイクロビーズは、生体分子を検出する道具として利用できる。その応用のひとつとして、フローサイトメーター（FCM）を利用したマイクロビーズアレイ法があげられる。例えば、同法では、種々の大きさや蛍光強度を持つマイクロビーズにさまざまな抗体を固定化し、ビーズとは異なる波長の蛍光色素をラベルした抗原と反応させる。次に、FCMによってビーズ

を細管にフローさせながらレーザー光を照射し、その散乱光と蛍光の強度から各ビーズを識別し、さらに抗原を標識した蛍光色素の検出の有無によって、どのタイプの抗体に抗原が反応したのかを調べる。この方法は、水溶液中にビーズを懸濁した状態で分析するので、バイオチップに比較して簡便であり、多数の検体を高速で分離・検出できるという特徴を持つ。抗原抗体反応のほか、FCMはDNAの個人差を判別するSNPs（一塩基多型）

解析として注目されている。

現在、FCM用の蛍光ビーズには有機色素を包埋したポリマー粒子が利用されている。しかしながら、マトリクスと有機色素との親和性が低いため、蛍光物質の充填率を増加させるためには複雑な前処理を必要とする。また、次のような蛍光有機色素の問題点を有している。

- ①保存時に光退色が起こる。
- ②励起波長と蛍光波長の近接により、励起光の迷光を蛍光として検出する。
- ③蛍光スペクトルがブロードであり、複数の蛍光色を同時に利用することが困難である。

蛍光有機色素の問題点を解決できる材料として、近年 CdSe/ZnS コア/シェル型半導体ナノ粒子(量子ドット)が開発されている。Nieらは、CdSe/ZnS 量子ドットが多色発光できることを利用してオプティカルコードを持つマイクロビーズを作製し、バイオアッセイに利用できることを提案した。これらの蛍光ビーズの蛍光はフローサイトメーターによって検出できることが実証されている。

量子ドットや希土類ドーブナノ粒子を複合化した蛍光マイクロビーズは、次のような4種類の方法により作製されている。第1の方法はポリスチレンおよびシリカの多孔質ビーズの細孔に、トリオクチルホスフィンオキシドに被覆された CdSe/ZnS 量子ドットを導入する方法である。第2の方法は静電的な相互作用を利用して蛍光ナノ粒子とビーズを複合化させる方法である。チオグリコール酸を被覆した CdTe 量子ドットは負に帯電した COO<sup>-</sup>基を持つので、正に帯電した NH<sub>4</sub><sup>+</sup>基を持つポリアリルアミンヒドロクロライド (PAH) と負に帯電した SO<sub>3</sub><sup>-</sup>基を持つポリスチレンスルホン酸ナトリウム (PSS) を交互に積層した PAH/PSS/PAH ポリスチレンビーズと複合化することが報告されている。第3の方法は、有機溶媒中でポリマーを膨潤させてナノ粒子を取り込ませる方法である。第4の方法は、ポリマービーズを重合する際に量子ドットを複合化する方法である。

## 2. 研究の目的

生体分子を検出するアッセイなどに用いられる蛍光標識ビーズでは、蛍光材料として有機色素が広く使用されている。しかし、有機色素は紫外光の励起や周囲の酸素との反応により退色を起しやすく、長期の保存や観察に適していない。このため、耐久性の観点から無機ナノ粒子の蛍光体が有機色素に替わる蛍光材料として注目されている。また、高分子ビーズとナノ粒子を比較的簡便な操作によって複合化させる手法として交互吸着法があげられる。同法は異符号に帯電している物質間の静電的な相互作用を利用している。本研究では、交互吸着法を用いて研究

代表者が開発した近紫外光で励起して赤色蛍光を示す YVO<sub>4</sub>:Bi<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup> 蛍光ナノ粒子を PMMA ビーズに複合化させることを検討した。また、研究代表者はグリコサマル法で合成した Y<sub>3(1-x)</sub>Ce<sub>3x</sub>Al<sub>5</sub>O<sub>12</sub> (YAG:Ce<sup>3+</sup>) 蛍光ナノ粒子を交互吸着法によって PMMA マイクロビーズに複合化する手法をすでに確立している。このため、本研究では、同様の吸着操作により磁性ナノ粒子をビーズに複合化させるために YAG と同じガーネット構造を有する Y<sub>3</sub>Fe<sub>5</sub>O<sub>12</sub> (YIG) 磁性ナノ粒子をグリコサマル法によって合成し、YAG:Ce<sup>3+</sup> 蛍光ナノ粒子と YIG 磁性ナノ粒子を交互吸着法によって PMMA ビーズへ吸着させ、蛍光/磁性のデュアル機能を有する複合マイクロビーズの作製を検討した。

## 3. 研究の方法

(1) 近紫外光励起赤色蛍光マイクロビーズの作製

①粒子径 10 $\mu$ m の PMMA ビーズを水に分散させ、カチオン性高分子 PAH 水溶液を加えてビーズ表面に PAH を吸着させた。さらに、このビーズに負に帯電している YVO<sub>4</sub>:Bi<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup> ナノ粒子を混合して吸着させて複合ビーズ A を作製した。

②水に分散させた PMMA ビーズに、カチオン性高分子 PAH とアニオン性高分子 PSS を交互に吸着させて各 4 層ずつ積層させた。得られたビーズに、さらに PAH を吸着させた後、YVO<sub>4</sub>:Bi<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup> ナノ粒子を吸着させて複合ビーズ B を作製した。

③負に帯電している YVO<sub>4</sub>:Bi<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup> ナノ粒子に、正に帯電した PAH を被覆した後、負に帯電した 10 $\mu$ m の PMMA ビーズに吸着させて複合ビーズ C を作製した。

④YVO<sub>4</sub>:Bi<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup> ナノ粒子を 10 $^{\circ}$ C/min で昇温し、所定温度で 2h 保持した後、室温まで放冷して焼成粉末試料を得た。この粉末試料を超純水に再分散させ、超音波処理をした後、フィルタに通して再分散コロイド溶液を得た。また、粒子径 10 $\mu$ m の PMMA ビーズを水に分散させ、カチオン性高分子 PAH 水溶液を加えてビーズ表面に PAH を吸着させた。このビーズに、上述の再分散コロイド溶液を混合して吸着させて複合ビーズ D を作製した。

(2) 青色光励起緑色蛍光・磁性マイクロビーズの作製

1,4-ブタンジオール、酢酸イットリウム四水和物および酢酸セリウムをオートクレーブに投入した。次に、300 $^{\circ}$ Cまで 90min で昇温し、同温度で 2h 保持した後、室温まで空冷し、YAG:Ce<sup>3+</sup> ナノ粒子を合成した。同様に Ce<sup>3+</sup> をドーブしていない YAG ナノ粒子を合成した。次に、1,4-ブタンジオール、ジエチレンジグリコールおよび YAG ナノ粒子分散液をオ

ートクレーブに投入し、さらに酢酸イットリウム四水和物および鉄(III)アセチルアセトナートを仕込んだ。次に、300℃まで90minで昇温し、同温度で2h保持した後、室温まで空冷し、コア/シェル型YAG/YIGナノ粒子を合成した。また、静電的な相互作用を利用し、負に帯電した10 $\mu$ mのPMMAマイクロビーズに正に帯電したYAG/YIGナノ粒子と負に帯電したアニオン性高分子PSSを交互に吸着した。さらに、同様の操作でYAG:Ce<sup>3+</sup>ナノ粒子とPSSを交互に吸着し、蛍光/磁性複合マイクロビーズを得た。

### (3) キャラクターゼーション

動的光散乱法(DLS)による粒子径分布測定、ゼータ電位測定、フーリエ変換赤外線吸収(FT-IR)スペクトル測定、粉末X線回折法(XRD)、蛍光X線分析による元素分析、走査型電子顕微鏡(SEM)による観察、蛍光顕微鏡による観察、FCMなどを行った。

## 4. 研究成果

### (1) 未焼成 YVO<sub>4</sub>:Bi<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup> ナノ粒子の PMMA マイクロビーズへの複合化

水(pH=7.4)に分散させたYVO<sub>4</sub>:Bi<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup>ナノ粒子のゼータ電位の分布は-40mV付近に位置していた。YVO<sub>4</sub>:Bi<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup>ナノ粒子のFT-IRスペクトルには、1575cm<sup>-1</sup>および1395cm<sup>-1</sup>付近にそれぞれクエン酸イオンのカルボキシル基(COO<sup>-</sup>)の非対称伸縮振動および対称伸縮振動によるピークが観測された。これより、YVO<sub>4</sub>:Bi<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup>ナノ粒子はクエン酸の吸着により負に帯電していると考えられる。水(pH=6.8)に分散させたPMMAビーズのゼータ電位の分布は-85mV付近に位置していた。このように、YVO<sub>4</sub>:Bi<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup>ナノ粒子およびPMMAビーズはともに負に帯電していた。このため、PMMAビーズにカチオン性高分子であるPAHを吸着させたところ、ゼータ電位を+50mV付近の正の値へ反転できた。

PAHを被覆させたPMMAビーズにYVO<sub>4</sub>:Bi<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup>ナノ粒子を静電的な引力によって被覆することを検討した。ゼータ電位のpH依存性から、吸着処理を行うpHは両者のゼータ電位の符号が逆であり、その差が大きいpH=7.0付近とした。PAHを被覆させたPMMAビーズにYVO<sub>4</sub>:Bi<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup>ナノ粒子を混合したところ、ゼータ電位の分布は0mV付近にシフトした。図1(a)(b)および(c)(d)にそれぞれPMMAビーズおよび複合ビーズAのSEM像を示す。この結果より、PMMAビーズ表面にナノ粒子が被覆している様子が観察された。近紫外光によってPMMAビーズおよび複合ビーズAを励起し、蛍光を検出したときの蛍光画像をそれぞれ図2(a)および(b)に示す。この結果より、PMMAビーズには何も観察されないのに対し、複合ビーズAには微弱な赤色の蛍光が

観察された。これは、PMMAビーズ表面に吸着したYVO<sub>4</sub>:Bi<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup>ナノ粒子が、0<sup>2-</sup>→V<sup>5+</sup>の電荷移動遷移およびBi<sup>3+</sup>に起因する励起により、Eu<sup>3+</sup>のf-f遷移によって赤色に発光したことに起因する。

PMMAビーズに、カチオン性高分子PAHとアニオン性高分子PSSを交互に各4層ずつ吸着させたのち、さらにPAHを吸着させたビーズを作製した。その際に、各吸着操作によってゼータ電位が反転することを確認した。このビーズにYVO<sub>4</sub>:Bi<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup>ナノ粒子を吸着させて作製した複合ビーズBのSEM像を図1(e)(f)に示す。この結果より、複合ビーズAよりも複合ビーズBの方がビーズ表面へのYVO<sub>4</sub>:Bi<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup>ナノ粒子の吸着量が多いことがわかる。また、図2(c)に示すように、複合ビーズAよりも複合ビーズBの方が、蛍光強度が高かった。これらの結果の原因として、高分子の被覆を繰り返すことによりビーズ表面にミクロな凹凸が形成され、ナノ粒子の吸着サイト数が増加したことが考えられる。

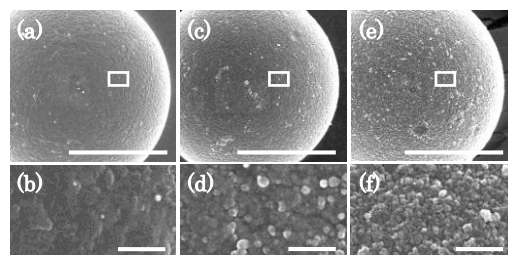


図1 SEM写真. (a,b) PMMAビーズ, (c,d) 複合ビーズA, (e,f) 複合ビーズB. Scale bar: 5  $\mu$ m (a, c, e), 500 nm (b, d, f).

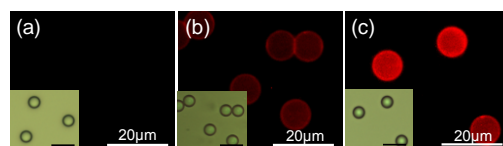


図2 蛍光画像と明視野像. (a) PMMAビーズ, (b) 複合ビーズA, (c) 複合ビーズB.

次に、負に帯電しているYVO<sub>4</sub>:Bi<sup>3+</sup>, Eu<sup>3+</sup>ナノ粒子に、正に帯電したPAHを被覆したところ、平均粒子径が18nmから110nmへ増大した。ゼータ電位はマイナスからプラスへ反転したため、ナノ粒子をPAHで被覆できたことがわかる。ナノ粒子をPAHで被覆することで、蛍光・励起波長の変化は見られなかった。SEM観察から、複合ビーズAよりも複合ビーズCの方が、ナノ粒子が全体的に均一に吸着していることが確認できた。また、他の分析結果より複合ビーズCの方が複合ビーズAに比較して吸着量が多く、蛍光強度が大きいことが

わかった。

### (2) 焼成 $\text{YVO}_4:\text{Bi}^{3+}, \text{Eu}^{3+}$ ナノ粒子の PMMA マイクロビーズへの複合化

$\text{Eu}^{3+}$  の蛍光に対する励起スペクトルより、 $\text{YVO}_4:\text{Bi}^{3+}, \text{Eu}^{3+}$  ナノ粒子焼成試料は波長 300nm 以上の近紫外光で励起できることがわかった。蛍光強度は焼成温度の上昇と共に増大したが、400°C 以上では減少した。XRD の結果から 400°C 以上の焼成試料には  $\text{BiVO}_4$  のピークが観測された。このような  $\text{YVO}_4$  と  $\text{BiVO}_4$  との相分離が蛍光強度の低下の原因であると考えられる。また、FT-IR、 $\zeta$  電位測定、DLS の結果から、焼成してもカルボキシル基が残存し、負に帯電し、水中へのナノ粒子の分散も良好であることがわかった。以上のことから吸着させる蛍光体の焼成温度を 300°C とした。図 3 に、 $\text{YVO}_4:\text{Bi}^{3+}, \text{Eu}^{3+}$  ナノ粒子の 300°C 焼成試料を、PAH 被覆 PMMA ビーズに被覆した複合ビーズ D の蛍光顕微鏡画像と SEM 像を示す。焼成試料を用いることで未焼成試料と比較して吸着量が増加し、蛍光強度も増大した。これは、焼成により、蛍光体自身の蛍光強度が増大したことと、蛍光体表面に強固に配位しているクエン酸イオンだけが焼成後には残存していることが原因として考えられる。

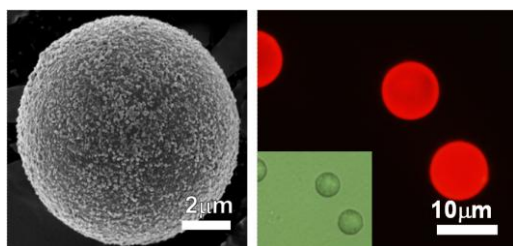


図 3 複合ビーズ D の SEM 写真と蛍光・光学顕微鏡画像。

以上のように、種々の交互吸着法を用いて  $\text{YVO}_4:\text{Bi}^{3+}, \text{Eu}^{3+}$  ナノ粒子を PMMA マイクロビーズへ複合化する手法を検討した。今後は、 $\text{YVO}_4:\text{Bi}^{3+}, \text{Eu}^{3+}$  蛍光ナノ粒子のほかに磁性ナノ粒子をさらに複合化し、蛍光・磁性の機能を併せ持つ複合ビーズを作製することを検討する予定である。

### (3) $\text{YAG}:\text{Ce}^{3+}$ と YIG ナノ粒子の PMMA マイクロビーズへの複合化

合成した磁性ナノ粒子の XRD プロファイルには YAG のほかに YIG のピークが観測された。YIG 原料に対する YAG ナノ粒子の仕込み比を変化させても、両者の XRD ピークはシフトしなかった。また、ほぼ全てのサンプルが、磁石によって誘導された。単一の結晶方位を持つ格子像が観察されたので、YIG が YAG 上にエピタキシャル成長したと考えられる。DLS

により水中での分散状態を調べたところ、YAG/YIG ナノ粒子は良好に分散していた。YAG/YIG ナノ粒子のゼータ電位は、正に帯電 (+48.3 ± 7mV) しており、交互吸着操作が可能な値を示した。複合ビーズの SEM 像によると、PMMA ビーズに YAG/YIG および  $\text{YAG}:\text{Ce}^{3+}$  ナノ粒子が複合化したことが観察された。図 4 に示すように、作製した蛍光/磁性複合ビーズは青色光励起で緑色蛍光を示した。また、FCM による蛍光強度評価においてもドット群として認識できた。図 5 に示すように、磁石による磁気誘導が可能であり、磁石を取り除けば再び良好に分散することを確認した。

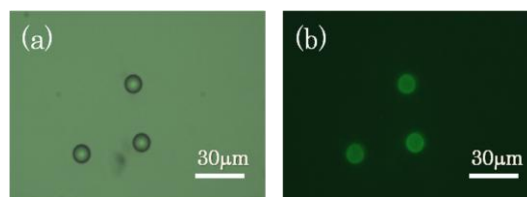


図 4 蛍光/磁性複合ビーズの写真。(a) 明視野像、(b) 蛍光画像。

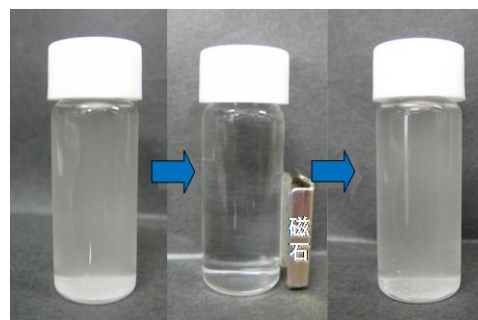


図 5 蛍光/磁性複合ビーズの磁気誘導の様子。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

① Kenji Akisada, Yusuke Noguchi, Tetsuhiko Isobe, “Preparation of Composite PMMA Microbeads Hybridized with Fluorescent  $\text{YVO}_4:\text{Bi}^{3+}, \text{Eu}^{3+}$  Nanoparticles”, IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 査読有, 2011, in press.

②秋貞研二, 磯部徹彦, “交互吸着法による  $\text{YVO}_4:\text{Bi}^{3+}, \text{Eu}^{3+}$  ナノ粒子複合 PMMA ビーズの作製”, 希土類, 査読無, No. 54, 2009, pp. 58 ~ 59.

[学会発表] (計 3 件)

① Kenji Akisada, Yusuke Noguchi,

Tetsuhiko Isobe, “Preparation of Composite PMMA Microbeads Hybridized with Fluorescent  $YVO_4:Bi^{3+}, Eu^{3+}$  Nanoparticles”, The 3rd International Congress on Ceramics, 2010年11月15日, 大阪国際会議場(大阪府)

②野口雄介, 秋貞研二, 磯部徹彦, “焼成した  $YVO_4:Bi^{3+}, Eu^{3+}$  ナノ粒子を複合させた蛍光マイクロビーズの作製”, 第48回セラミックス基礎科学討論会, 2010年1月13日, 沖縄コンベンションセンター(沖縄県)

③秋貞研二, 磯部徹彦, “交互吸着法による  $YVO_4:Bi^{3+}, Eu^{3+}$  ナノ粒子複合 PMMA ビーズの作製”, 第26回希土類討論会, 2009年5月28日, 札幌コンベンションセンター(北海道)

[その他]

ホームページ

<http://www.applc.keio.ac.jp/~isobe/>

受賞

The Poster Award

Kenji Akisada, Yusuke Noguchi, Tetsuhiko Isobe, “Preparation of Composite PMMA Microbeads Hybridized with Fluorescent  $YVO_4:Bi^{3+}, Eu^{3+}$  Nanoparticles”, The 3rd International Congress on Ceramics, 2010年11月15日, 大阪国際会議場(大阪府)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

磯部 徹彦 (ISOBE TETSUHIKO)  
慶應義塾大学・理工学部・教授  
研究者番号: 30212971

### (2) 研究分担者

該当なし

### (3) 連携研究者

該当なし