

中央大学 博士論文

Study on the Phase Transition Dynamics
of Thermoresponsive Polymer
and its Application

熱応答性高分子の相転移とその応用に関する研究

Hayato Inoue

井上 隼仁

博士（工学）

中央大学大学院
理工学研究科
応用化学専攻

平成24年度

2013年3月

Study on the Phase Transition Dynamics
of Thermoresponsive Polymer
and its Application

Hayato Inoue

Supervisor: Prof. Kenji Katayama

Doctoral Program in Applied Chemistry
Graduate School of Science and Engineering
Chuo University

熱応答性高分子の相転移とその応用に関する研究

Study on the phase transition dynamics of thermoresponsive polymer and its application

応用化学専攻 井上 隼仁

Department of Applied Chemistry Hayato Inoue

レーザー温度ジャンプ法とヘテロダイン過渡格子法を組み合わせ、熱応答性高分子として知られる poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM) 水溶液の相転移ダイナミクス測定を行った。溶液の光の透過率変化という巨視的な相転移過程のみならず、水和した高分子が、脱水和して収縮する、分子レベルでのダイナミクスが存在することを見出した。さらに、相転移・相緩和・分子緩和等の相変化に関する全体像をとらえることで、そこに付随する水和・脱水和にともなう分子構造変化について考察を行った。また、熱応答性高分子の相転移にともなう親水性・疎水性、極性などの環境変化を利用し、顕微鏡下において発生させた局所的な相転移領域を用いた有機物質の抽出・濃縮・検出システムを考案した。

1. Introduction

熱応答性高分子として知られる poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM) や poly(vinylmethylether) (PVME) の水溶液は、室温では透明な均一状態であるが、ある温度以上に加熱すると、白濁した混合状態に相転移し、再び冷却すると再溶解するという可逆的な溶解挙動を示すことが古くから知られている(Fig. 1)。熱応答性高分子の相転移機構は、相転移温度以下で高分子鎖は水和して広がった coil 構造をとりながら溶解し、加熱とともに脱水し収縮した構造へと構造転移すると考えられている。多くのタンパク質や酵素が加熱により変性・失活するのと類似した挙動を示す一方、非可逆的な応答を示す生体分子とは異なり、可逆的に相転移するなど非常に興味深い特性を持つ。

この熱応答性高分子水溶液の相転移過程は、巨視的には濁度変化として観測されているほか、微視的には水素結合や疎水性相互作用変化が誘起されるため、可逆的に親水・疎水性、極性環境が制御できると考えられる。この特性を生かし、

材料表面に修飾して熱機能性を持たせたインテリジェント材料の開発のほか、相転移によって物質捕集・放出を制御する、薬物伝達システム等の研究に興味を持たれている。

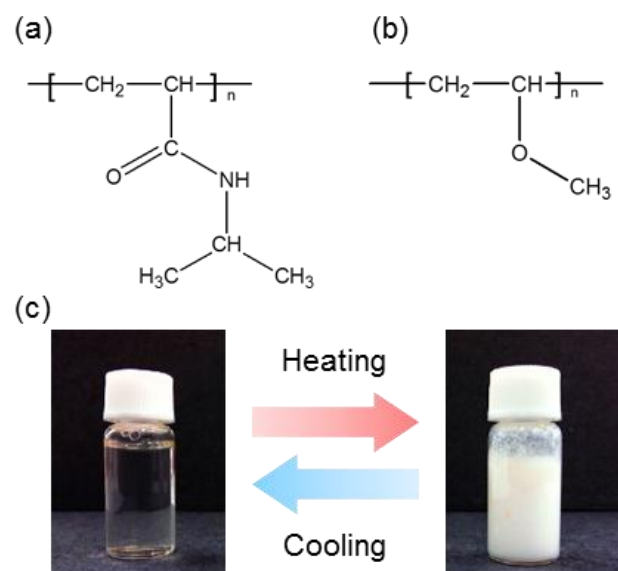


Fig. 1 熱応答性高分子の構造
(a) PNIPAM, (b) PVME と
(c) PNIPAM 水溶液の相転移挙動

また、相変化にともなう高分子構造変化ダイナミクスについては、蛍光プローブ法を用いて個々の分子の相転移過程が、光の透過率変化を用いた濁度法を用いて、相転移した分子が疎水性相互作用により凝集する相分離過程などが観察されてきた。しかし広い時間領域で連続的に起こる相転移構造変化ダイナミクスをモニタリングすることは困難であった。本研究は屈折率変化を通して光化学反応ダイナミクスを測定する過渡格子法と、試料を瞬間的に加熱、相転移を誘起するレーザー温度ジャンプ法を組み合わせることで、熱応答性高分子の相転移・相緩和過程を明らかにする。また、熱応答性高分子を用いた新規アプリケーション開発を考案した。

2. Observation of phase transition dynamics

屈折率変化を通して光化学反応をモニタリングするヘテロダイン過渡格子(HD-TG)法の装置図を Fig. 2 に示す。

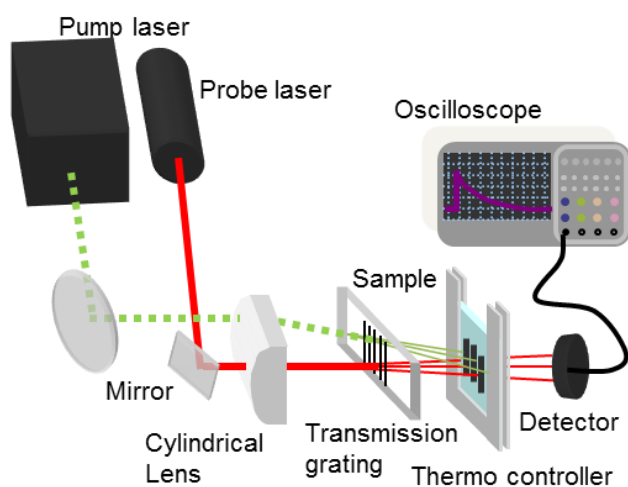


Fig. 2 HD-TG 法の装置図

透過型回折格子によって回折された励起光は、回折格子後方に縞状の光強度分布を生成する。試料が縞状に光吸収することにより、熱の発生、相転移の誘起などにより試料中に過渡格子が生成する。その様子を同軸上に検出光を入射することで屈折率変化を通して観測する。試料溶液に光を吸収し熱を発生させるヒーター分子を添加することで、光を用いた瞬間的な加熱(レーザー温度

ジャンプ) により相転移を誘起した。試料として、PNIPAM 水溶液(3.0 wt%, Mw 25000, Tc=33.2 °C) に、ヒーター分子としてクリスタルバイオレット水溶液(CV, 0.3 mM) を添加した。温調セルを用いて相転移温度より僅かに低い温度まで温め、パルス励起光($\lambda=532$ nm, 14 mJ/pulse) を用いて瞬間的に試料を加熱、相転移を誘起した。温度ジャンプ幅は 1.0 K, 格子間隔 $\Lambda=60$ μm とした。また、透過型回折格子を取り外すことで測定が可能な、濁度法を用いた測定も合わせて行った。

Fig. 3 に PNIPAM 水溶液の HD-TG 応答と濁度法を用いて得られた応答を示す。

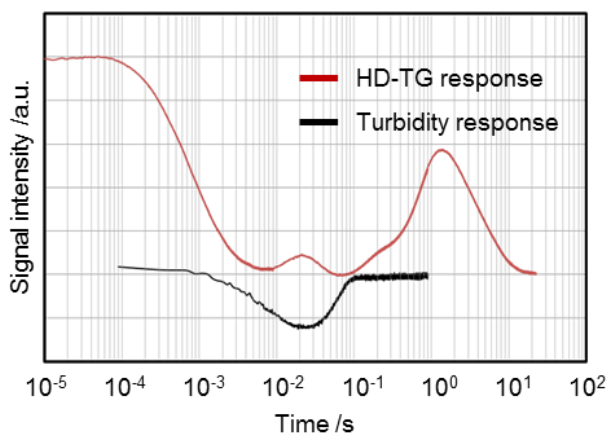


Fig. 3 HD-TG 応答と濁度応答

10^{-5} - 10^2 秒の長い時間領域にかけて、指数関数的緩和の足し合わせで表すことが出来るいくつかの成分を観測することが出来た。HD-TG 法により観測される成分とは、反応中間体の寿命や拡散に関する情報が反映されているため、この応答は相転移ダイナミクスが観測されているものと考えられる。また、濁度法により観測される応答は、瞬間的な加熱により相転移が誘起され、濁度が増加する応答と、熱緩和にともない、元の透明な溶液へと濁度が緩和する応答なので、HD-TG 法で得られた 10^{-2} - 10^{-1} 秒領域の応答は濁度増加と緩和に関する応答だと考えられる。

また HD-TG 応答では、濁度が増加する以前 ($\sim 10^{-2}$ 秒), 濁度が緩和した以降 (10^{-1} 秒~), つまり溶液が透明な条件においても相転移応答を観測していることになる。まず、 10^{-5} - 10^{-2} 秒領域の濁度

が変化する以前の応答について詳しく見ていくために、相転移が誘起されない条件(試料温度 25 °C) と誘起される条件(同 32.5 °C) で測定を行った(Fig. 4 (a)). 相転移が誘起されない条件では縞状に発生した熱が拡散する熱格子と呼ばれる応答のみが観測された。一方、相転移が誘起される条件では、およそ 100 μ s の時定数を持つ新たな成分を観測した。蛍光測定を用いた報告との比較から、水和して広がった coil 状態の分子から収縮した globule 状態の分子へと収縮する際の屈折率変化を捉えていると考えられる。また、濁度が緩和した後の応答について、HD-TG 法の測定原理から、拡散する 2 成分の応答だと考えられる。そこで、格子間隔依存性の測定を行った(Fig. 4(b)). 各応答は格子間隔依存性を示し、解析した結果、濁度緩和の後の数秒かけて元の coil 状態へと拡散しながら緩和する globule 分子の応答と、coil 分子との相互拡散応答であることが分かった。Fig. 5 に HD-TG 法を用いて明らかになった PNIPAM 水溶液の相転移ダイアグラムを示す。水和している coil 状態の分子は加熱によりおよそ 100 μ s で構造転移が起こり、分子は収縮する。その後、疎水性相互作用により、globule 状態の分子は凝集し(~10 ms), 熱の緩和とともに、溶液は透明な状態へと緩和する(~ 50 ms). その後、数秒かけて、元の coil 状態へと構造緩和する様子が観測された。^[1, 3]

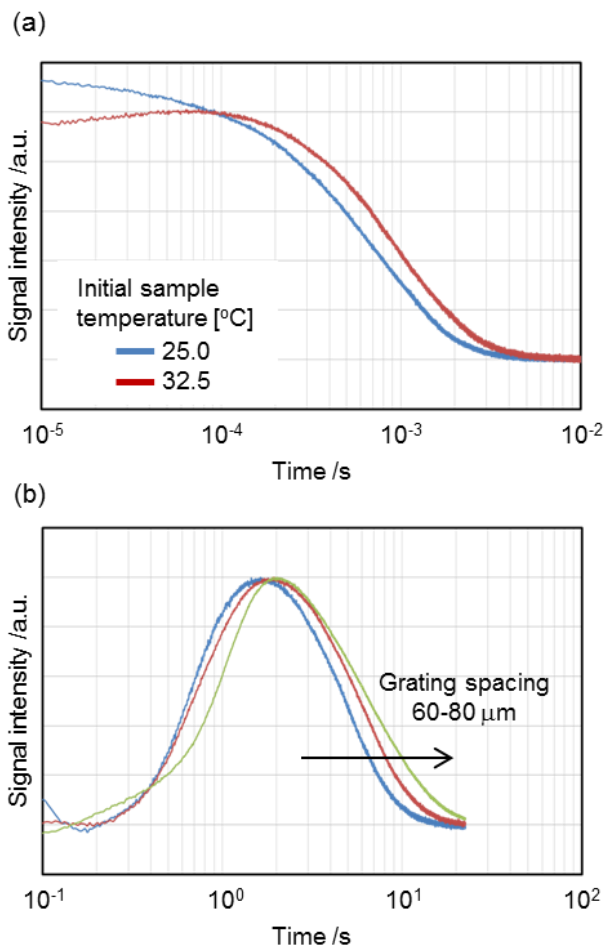


Fig. 4 PNIPAM 水溶液の過渡格子応答 (a) 10^{-5} - 10^{-2} 秒領域, (b) 10^{-1} - 10^2 秒領域での格子間隔依存性

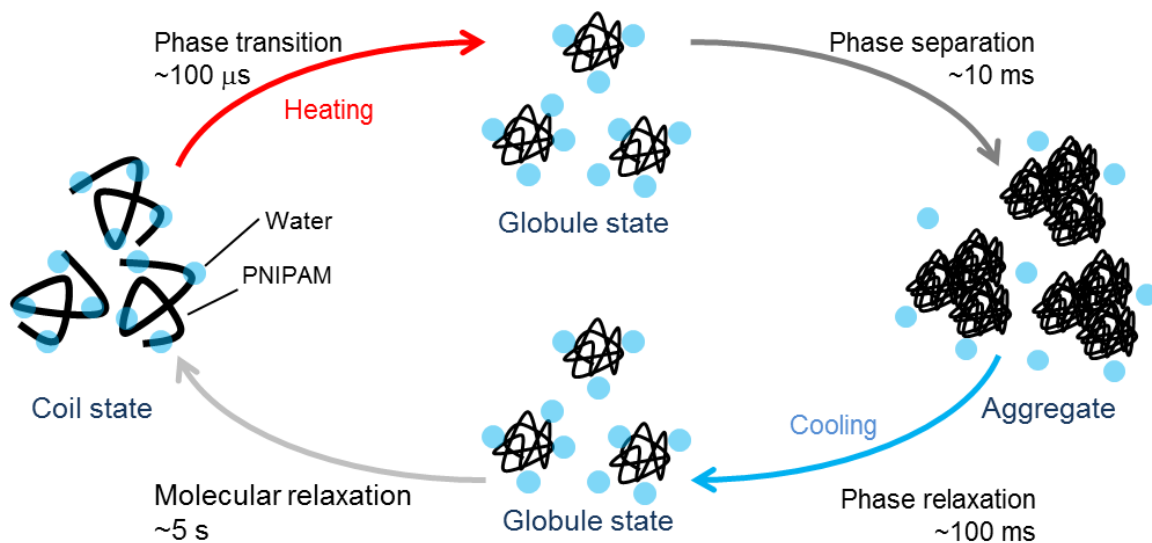


Fig. 5 PNIPAM 水溶液の相転移ダイアグラム

3. Application of local extraction and condensation

熱応答性高分子の相転移にともなう環境変化を利用した有機物質の抽出・濃縮・検出に関する新規アプリケーションの開発を行った。濁度変化による濃縮度の検出の困難さを排除するために、局所空間中に相転移領域を生成し、添加した物質の濃縮の様子を光の吸収変化を用いて in-situ に測定を行った。局所加熱に用いた金属細線付セルと集光する近赤外光の模式図を Fig. 6(a) に示す。顕微鏡下にて、近赤外光を金属細線に集光照射し、光熱効果により熱を発生させ、局所的に相転移領域を生成した。PNIPAM 水溶液(10 wt%, Mw 25000) に CV 水溶液(0.1 mM) を添加したときの様子を Fig. 6(b) に示す。

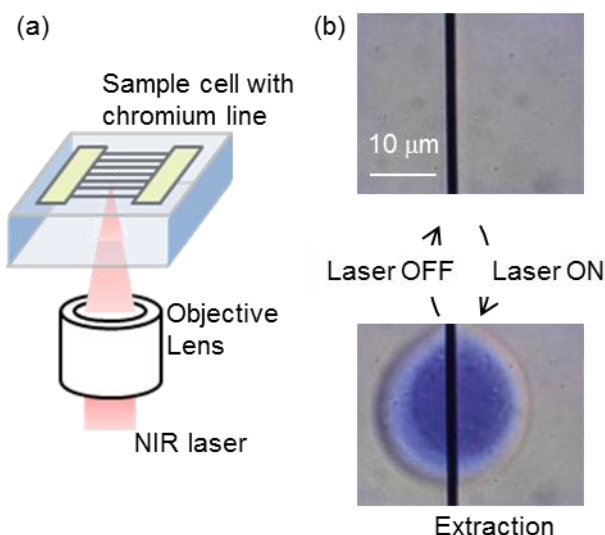


Fig. 6 (a)金属細線付セルを用いた局所加熱の模式図 (b)近赤外光を照射したときの相転移領域中への CV の濃縮画像

金属細線は画像上の黒い線として観測される。近赤外光を金属細線に照射すると、局所的に円形の相転移領域が生成、ほぼ透明だった水溶液が相転移領域のみ色づいていく様子が観測された。この応答は可逆的であり、近赤外光の照射をやめると、熱の緩和とともに、均一な水溶液へと戻っていく様子が観測された。相転移領域のほぼ中心の顕微吸収スペクトルの時間応答を測定した結果を Fig. 7 に示す。

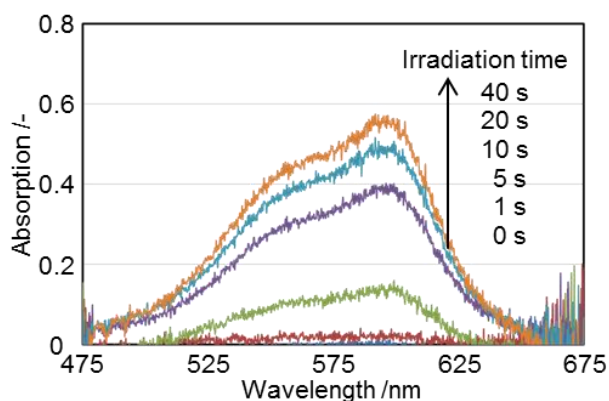


Fig. 7 近赤外光を照射したときの相転移領域の顕微吸収スペクトル

近赤外光の照射とともに、吸収スペクトルは変化し、およそ 30 秒から 40 秒で一定の値を得た。バルクでの CV 水溶液の吸収スペクトルとの比較から、得られた吸収スペクトルは CV と同定され、吸光度から、およそ 25 倍の濃縮に成功した。熱応答性高分子の局所相転移領域は微小空間中で微量の物質を捕集可能なことから、微量物質の検出感度向上に貢献できるものと期待される。^[2]

4. Conclusion

レーザー温度ジャンプ法と HD-TG 法を組み合わせることにより、従来の光化学反応過程だけでなく、一般的な物理量である、熱により反応が進行する過程についても測定することが可能となった。PNIPAM 水溶液の一連の相転移過程を明らかにすることで、高分子と水や、高分子間の連続的に変化する相互作用について明らかにした。また、熱応答性高分子を用いた局所濃縮・検出システムを考案し、およそ 25 倍の濃縮に成功した。

5. Publications

- 1) [Hayato Inoue](#), Kenji Katayama, Kaoru Iwai, Atsushi Miura and Hiroshi Masuhara. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, Vol. **14**, 5620 (2012).
- 2) [Hayato Inoue](#), Takayuki Yamamoto, Shota Kuwahara and Kenji Katayama. *Chem. – An Asian J.*, Vol. **8**, 108 (2013).
- 3) [Hayato Inoue](#), Shota Kuwahara and Kenji Katayama. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, Vol. **15**, 3814 (2013).

Contents

Chapter 1	General introduction	
1.1	Introduction	1
1.2	Thermoresponsive polymer	3
1.2.1	Poly(N-isopropylacrylamide)	5
1.2.2	Property of PNIPAM	7
1.2.3	Application of PNIPAM	9
1.2.4	Mechanism of phase transition	12
1.2.5	Dynamics measurement of PNIPAM	14
1.3	Time resolved spectroscopy analysis	16
1.3.1	Photo-thermal spectroscopy	18
1.4	Objective and outline of this thesis	23
	Reference	24
Chapter 2	Principle of transient grating method & laser temperature jump method	
2.1	Introduction	30
2.2	Transient grating method	31
2.2.1	Principle of transient grating method	32
2.3	Heterodyne transient grating method	38
2.3.1	Principle of heterodyne transient grating method	38
2.4	Relaxation method	46

2.4.1	Temperature jump method	46
2.4.2	Laser temperature jump method	48
2.5	Summary	51
	Reference	52

Chapter 3 Observation of phase transition dynamics by heterodyne transient grating method

3.1	Introduction	55
3.2	Experimental section	56
3.2.1	HD-TG method	56
3.2.2	Sample preparation	58
3.3	Investigate of sample properties	60
3.3.1	Absorption spectrum	60
3.3.2	Differential scanning calorimetry	61
3.4	Results and discussion	64
3.4.1	Whole phase transition dynamics	64
3.4.2	Comparing with turbidity measurement	66
3.4.3	Observation of phase transition dynamics before aggregation	69
3.4.4	Observation of phase transition dynamics after aggregation	78
3.4.5	Observation of phase transition dynamics depending on initial sample temperature	84
3.5	Summary	92

Reference	93	
Chapter 4	Observation of time resolved fluorescence spectroscopy & transmittance imaging using laser trapping under the microscope	
4.1	Introduction	96
4.2	Photon force	96
4.2.1	Principle of photon force	96
4.2.2	Principle of laser trapping	100
4.3	Experimental section	105
4.3.1	Optical setup	105
4.3.2	Sample preparation	107
4.4	Results and discussion	109
4.4.1	Photothermal effect of near infrared laser	109
4.4.2	Laser trapping of PNIPAM water and heavy water solution	110
4.4.3	Observation of phase relaxation process by transmittance image and fluorescence spectrum	116
4.5	Summary	120
Reference	121	
Chapter 5	Application of local extraction and condensation under a microscope	
5.1	Introduction	123

Contents

5.2	Experimental section	125
5.2.1	Local laser heating under the microscope	125
5.2.2	Sample preparation	126
5.3	Results and discussion	128
5.3.1	Local laser heating & phase transition	128
5.3.2	Local extraction & condensation	129
5.4	Summary	138
	Reference	139
Chapter 6	Conclusion and future outlook	
6.1	Conclusion	141
	Acknowledgement	145
	Publication list	146
	Awards & Carrier	148

Chapter 1

General introduction

1.1 Introduction

溶液中の物質は溶質間や溶媒-溶質間の van der Waals 力、静電相互作用、水素結合、疎水性相互作用などの影響を受けながら、系を安定化させている。特に生体高分子にとって水との相互作用は、その性質を発現するために欠かせない存在となっている。タンパク質を例にとって考えてみると、 α ヘリックスや β シートなどの規則的な二次構造は周囲を取り巻く水分子との相互作用により折り畳まれ、タンパク質の性質を決める三次構造を形成し、その機能を発現する。このとき、非極性残基のアミノ酸側鎖の多くは疎水性相互作用の働きにより、タンパク質の内部の水に接触しない部分に配置され、また電荷を持つ極性残基の多くは水素結合の働きにより、タンパク質分子の表面の水に接触する部分に配置される。このような生体分子と水の相互作用が機能発現に関わる三次元構造の形成・安定化を担っている。

この特定の三次元構造を短時間に自発的に形成する過程はフォールディング(折り畳み)と呼ばれ、アルツハイマー病やプリオン病などの病気はフォールディング異常により正常な三次構造を形成されないため引き起こされると考えられている。そのため、フォールディング機構の解析には、反応速度定数や構造変化過程の中間体の特徴などの研究が必須であると考えられている。また、タンパク質と水のような溶媒-溶質間の相互作用は pH や温度、添加物によ

って変化し、その三次構造は容易に熱変性や失活をすることは広く知られている。このような生体高分子のフォールディングにより高次構造が自発的に形成される過程や、溶媒-溶質間に働く相互作用変化の影響に関する研究は非常に興味深く、その解析または測定法の開発は非常に重要であると考えられる。

タンパク質のフォールディング過程の研究はフォールディングの誘起法と検出法の組み合わせにより様々な観点から行われている。フォールディングの誘起法としては、タンパク質水溶液に熱水や酸・塩基、界面活性剤などを混合する高速混合法や、レーザー光により瞬間的に加熱するレーザー温度ジャンプ法、光を用いて変性を誘起させる光誘起還元法などが上げられる。また検出法としては、タンパク質全体の構造変化を検出する X 線小角散乱(SAXS) やタンパク質の局所的な構造変化を検出する蛍光共鳴エネルギー移動(FRET), 円偏光二色性(CD), 近赤外分光、共鳴ラマン分光、蛍光、核磁気共鳴(NMR), などが用いられている。^[1-12] これらの研究に加え、タンパク質のフォールディング過程を明らかにするために、連続的に変化するタンパク質全体の構造変化過程と、疎水性相互作用や水素結合などのタンパク質と溶媒である水の相互作用変化を検出することが必要である。^[13-15]

そこで、本論文は、生体高分子よりも取扱いが容易で、単純化された生体高分子のモデル分子として熱応答性分子を用いて、構造変化ダイナミクスの測定を行った。この結果から、高分子-水間、高分子間の相互作用変化について考察を行い、水溶液中の高分子構造変化についてのモデルを作成した。

1.2 Thermoresponsive polymer

生体高分子だけでなく、ある種の水溶性ポリマーは、溶液温度変化が水との相互作用に影響を与え、その溶解性を劇的に変化させる。このような高分子は熱応答性高分子あるいは感熱性高分子と呼ばれ注目されている。^[16] 特に、バイオマテリアルや Drug delivery system(DDS) などの分野で熱応答性のインテリジェント型の材料開発に広く用いられている。^[17,18] またこれらのポリマーを架橋することで得られる熱応答性ゲルは温度変化により急速かつ大きく収縮することから、筋肉に相当するアクチュエーターとしての可能性と同時に、温度可逆的な吸着分離用の材料として、また、温度可逆的な脱水剤としての利用も考えられている。^[19,20]

これらの熱応答性ポリマーは低温で水に対して可溶であるのに対し、ある温度(下限臨界溶液温度: lower critical solution temperature: LCST) まで昇温すると、不溶化して白濁・沈殿し、再び冷却すると再溶解するという可逆的な特徴ある溶解挙動を示す。^[21] この不溶化現象は多くのタンパク質、酵素などの水溶液が加熱により熱変性・凝集する現象と類似している一方、非可逆的な応答を示す生体高分子とは異なる挙動を示す点においても興味深く、熱応答性高分子がモデルタンパク質として注目される要因でもある。

低温で不溶化し、高温で溶解する上限臨界溶液温度(upper critical solution temperature: UCST) を示す高分子も存在する。^[22] しかし、温度上昇に伴い溶解性が減少するという特異性や、DDS などの応用に適用する際の生理条件下で機能を発現することが困難であることから、LCST 型の温度応答性高分子を用いた材料開発の方が圧倒的に多く研究がなされている。溶液中の高分子の LCST 型、UCST 型の相図を Fig. 1.1 に示す。温度を変化させるだけで、水が高分子に対して良溶媒・貧溶媒に変化する点が興味深い。

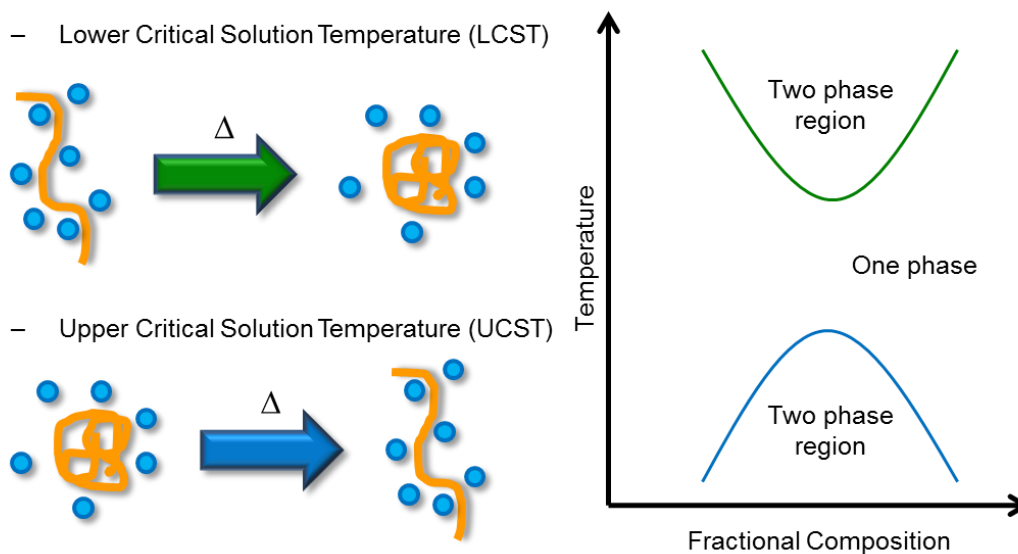


Fig. 1.1 溶液中で LCST 型・UCST 型の溶解性を示す高分子の挙動と相図

LCST 型挙動を示す温度応答性高分子の、構造式と置換基を変化させたときの相転移温度を Fig. 1.2 に示す。代表的なものとして、(a) ポリ(N-アルキルアクリルアミド), (b) ポリ(N-ビニルアルキルアミド), (c) ポリビニルアルキルエーテルなどが上げられる。^[23-25] Fig. 1.2 に示すように、これらの高分子は置換基を変化させることで、相転移温度(T_c) が変化する。特にポリ(N-アルキルアクリルアミド) に関しては置換体を系統的に変えた様々なポリマー溶液に対する温度応答性挙動が詳細に調べられている。これらの系統的な測定から、ポリマー中の親水的な構造と疎水的な構造を持つことが温度応答性の機能を発現するために重要であり、その応答性や相転移温度は親水・疎水基のバランスが重要であることが分かっている。またリビングラジカル法をはじめとする重合法の確立により、分子量の精密制御や親水性・疎水性モノマーとの共重合、末端官能基修飾などにより、さまざまな性質を持つ熱応答性高分子が合成され、応用用途への研究がなされている。^[26-30]

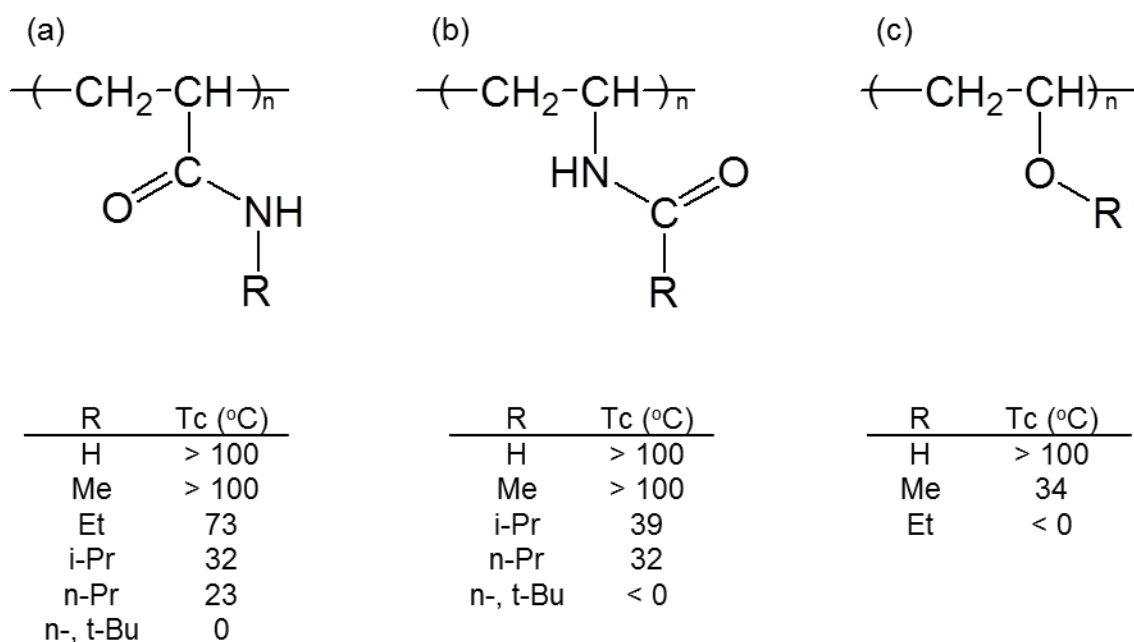


Fig. 1.2 LCST 型挙動を示す温度応答性高分子の構造式と相転移温度

- (a) ポリ(N-アルキルアクリルアミド), (b) ポリ(N-ビニルアルキルアミド),
(c) ポリビニルアルキルエーテル

1.2.1 Poly(N-isopropylacrylamide)

熱応答性高分子は、1960年代後半に Heskings と Guillet がポリ(N-アルキルアクリルアミド)のイソプロピル基置換体であるポリ(N-イソプロピルアクリルアミド) (PNIPAM)の水溶液の相転移現象を報告したのが初めとされる。Fig. 1.3 に PNIPAM 水溶液を温度変化させたときの様子を示す。Heskings 等の報告以来、熱に応答して溶解性を変化させる熱応答性高分子の研究が行われ、中でも PNIPAM は、転移の鋭敏さ、体温に近い相転移温度、ポリマー自身の強固さ、および、ポリマーと相転移に関する情報が容易に入手できるため、誘導體、ゲル、微粒子修飾体などについて多くの研究がされてきた。^[31-33]

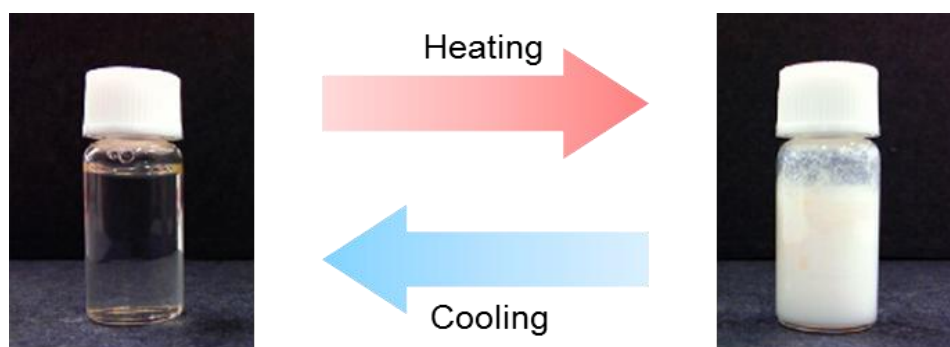


Fig. 1.3 PNIPAM 水溶液の温度応答性

Fig. 1.3 に示すように、PNIPAM 水溶液は相転移温度以下では透明な水溶液であるが、相転移温度以上であるおよそ $32\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以上に加熱すると、白濁した混合水溶液に相転移する。この相転移現象は熱以外にも、プロトン性溶媒であるアルコール類、非プロトン性溶媒である DMF, DMSO, 無機塩、アンモニウム塩、界面活性剤、糖類などの添加によっても引き起こされる。^[34-36] アルコールや塩の添加により、水への溶解性が変化する現象は、タンパク質のコロイド水溶液での塩析として観測される現象と等しく、また PNIPAM はポリロイシンの構造異性体と考えることもでき、タンパク質のモデル化合物としての研究が進められているなど、非常に興味深い高分子だと言える。^[37] PNIPAM と poly-(leucine)の構造を Fig. 1.4 に示す。

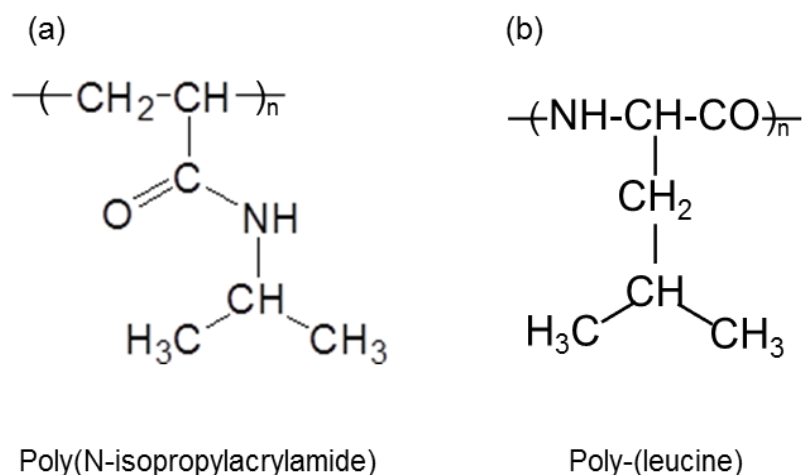


Fig. 1.4 (a) PNIPAM と(b) poly-(leucine)の構造式

1.2.2 Property of PNIPAM

PNIPAM 水溶液の相転移前後の構造や相転移温度、相転移時の水との相互作用変化についてはこれまで多くの研究が行われてきた。PNIPAM 水溶液はおよそ 32 度付近に LSCT を持ち、分子量 5 万～840 万、溶液濃度 0.01~1% の範囲では、相転移温度は一定値を示すことが確認されている。^[38,39] また、高分子の立体規則性であるタクチシチーの影響についても検討されている。^[40-42] PNIPAM 水溶液の相転移は濁度変化を伴うことから、相転移温度は光の透過率 50% の温度を曇点(cloud point: CP) として定義し、相転移温度を決定するのが一般的である。しかし、低分子量・低濃度のような溶液濃度条件では巨視的な光の透過率変化の観測が難しい為、正確な曇点の見積もりがされていないが、示差走査型熱量測定や粘度測定によりおよそ 32 度付近で相転移していることが確認されている。^[43,44]

PNIPAM の構造に着目すると、繰り返し構造単位の中できわめて隣接した位置に疎水的な構造(主鎖と側鎖のイソプロピル基) と親水的な構造(側鎖のアミド基) とをバランスのとれた状態で併せ持っている。このため、昇温降温の

熱刺激に敏感に応答できる特徴を持つと考えられている。水溶液中での PNIPAM 分子の周辺には 2 種類の水分子、PNIPAM の C=O 基や NH 基と相互作用する水分子と、主鎖とイソプロピル基を取り囲むように疎水性水和し、PNIPAM とは相互作用しない水分子が存在していると考えられている。^[45] Saito 等や Cho 等は Fig.1.5 に示すように、イソプロピル基周辺の水分子は”water cage”を形成し、溶媒間相互作用により構造を安定化させていると報告している。^[46,47]

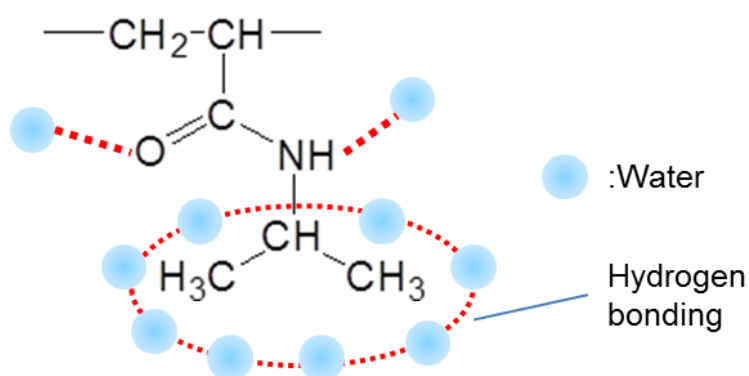


Fig. 1.5 熱応答性高分子を取り囲む水分子の溶媒間相互作用

PNIPAM 水溶液の相転移温度はおよそ 32 度と体温に近く、共重合において導入する NIPAM モノマー、親水性物質、疎水性物質のバランスを調整することで、相転移温度を自由に制御することが可能である。^[48] PNIPAM と共重合させる親水性物質、疎水性物質の割合を変化させ、温度に対する光の透過率変化を測定した応答を Fig. 1.6 に示す。PNIPAM の相転移温度は共重合させる親水性モノマー(DMAAm) の割合が増えると高温側へシフトし、疎水性モノマー(BMA) の割合が増えると低温側へシフトする。相転移温度に到達した熱応答性高分子水溶液は相転移・凝集することで、速やかに光の透過率が変化する。相転移温度が親水性・疎水性モノマーにより自由に变化させられることや、変化が俊敏で可逆的であることから、PNIPAM の構造や組成、性質などについて広

く応用研究がなされている。

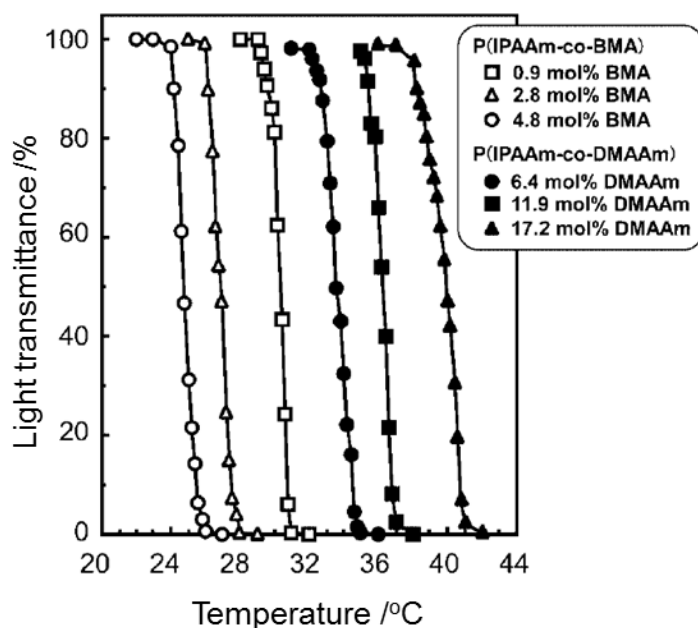


Fig. 1.6 共重合モノマー組成を変化させたときの、PNIPAM 共重合体の相転移温度変化

(M. Nakayama, *Drug Delivery System*, **2008**, 23, 627.)

1.2.3 Application of PNIPAM

PNIPAM 水溶液は相転移により、巨視的には溶解性の変化が濁度変化として観測されているほか、微視的には水素結合の変化や高分子の凝集のため、親水性・疎水性、極性変化が熱により可逆的に制御できる。そのため、これらの変化を生かした熱刺激応答性の新規材料への応用が開発されてきた。熱応答性高分子の熱刺激によるそれぞれの形態変化を Fig. 1.7 に示す。PNIPAM を用いた応用は大きく分類して、(a) 相転移による PNIPAM の物性変化を利用する、(b,c) 材料に PNIPAM を化学結合などで導入し、熱刺激応答性の新規材料を作る、および(d) ゲル化させることによる熱応答性アクチュエーターなどが上げられる。

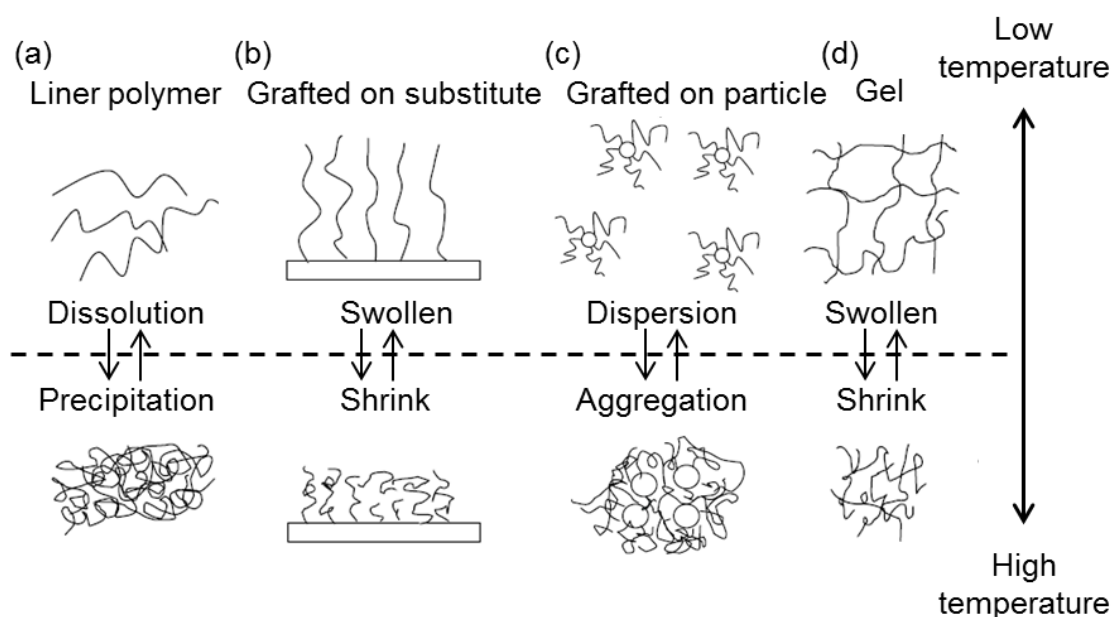


Fig. 1.7 熱応答性高分子の様々な利用形態

相転移による PNIPAM の物性変化を用いた例として、懸濁粒子の凝集が行われている。^[49] 低温で PNIPAM 水溶液と懸濁粒子を混合すると、粒子両面に PNIPAM が吸着する。この状態から相転移温度以上に加熱することにより、PNIPAM と粒子はともに疎水的となり、自発的に凝集し沈殿する。このとき脱水が同時に起きる為、得られた沈殿物は粒子表面に水を含まず、より凝集した、含水率の少ない圧密体を短時間で得ることが出来る。このような特徴を利用し、水質浄化や分析への応用も期待されている。^[50] また水溶液中の疎水性物質を捕集することから、有害物質の抽出剤としての利用や、PNIPAM をキレート剤で修飾し、温度応答性金属捕集材としての研究もされている。^[51-58] また、末端官能基を修飾した PNIPAM 誘導体についても研究されている。これらの応用は相転移前後の性質が温度によって変化することを巧みに利用している。本論文においても、PNIPAM を用いた新たな応用として、マイクロ空間における物質の濃縮法について考案し、その原理と結果は第五章にて詳しく解説を紹介する。

熱刺激応答性の新規材料としては、Fig. 1.8 に示すようなシリカゲル表面に PNIPAM を導入し、HPLC カラム内に充填することにより、温度により分離担体表面の性質を制御し、外部刺激に応答して試料との相互作用を変化させ分離選択性を制御する温度応答性クロマトグラフィーの開発が行われている。

[59] 生体高分子などで変性の起きやすい有機溶媒を溶離液に用いない優しい分離法として紹介され、水のみでの移動相でステロイドなど医薬品やタンパク、DNA などの生体高分子を含む複雑な系における分析を可能とした。

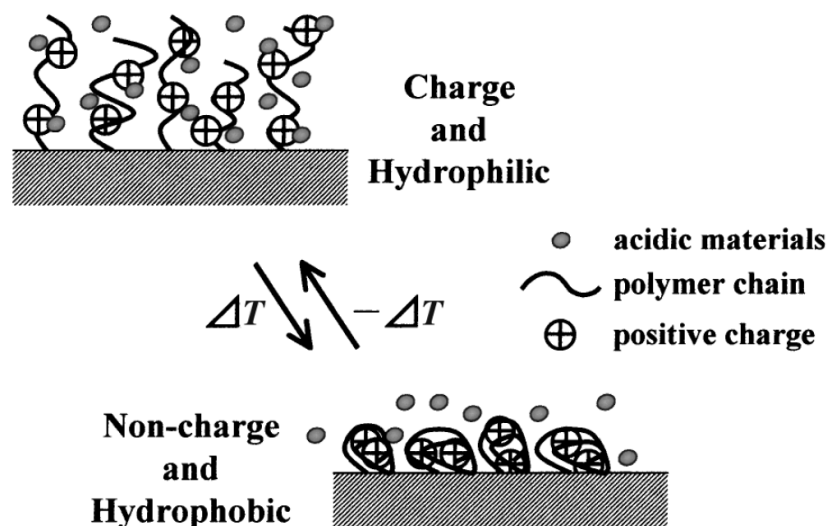


Fig. 1.8 シリカ表面に熱応答性高分子を修飾させた熱応答性 HPLC の模式図

(E. Ayano, et al., *BUNSEKI KAGAKU*, 2005, 54, 593.)

また金ナノ粒子に PNIPAM を修飾することで、熱によってナノ粒子同士の凝集や分散が制御され、局在表面プラズモンの変化を用いた高速・高感度センサーの開発も行われている。^[60]

PNIPAM を架橋した PNIPAM ゲルについては Tanaka 等によって 1981 年に報告されて以来、広く研究されている。PNIPAM 水溶液と同様にこのゲルは

冷水中で大きく膨潤しているが、32度以上に加熱すると直ちに収縮する。^[61] ゲルの挙動は可逆的で、膨潤-収縮のサイクルの繰り返しによる材料疲労は見られず、DDS などの観点から広く研究されている。Fig. 1.9 PNIPAM ゲルを用いた DDS の模式図を示す。低温ではゲル内に薬理作用のある物質を貯めこみ、温度変化によって放出することが可能である。

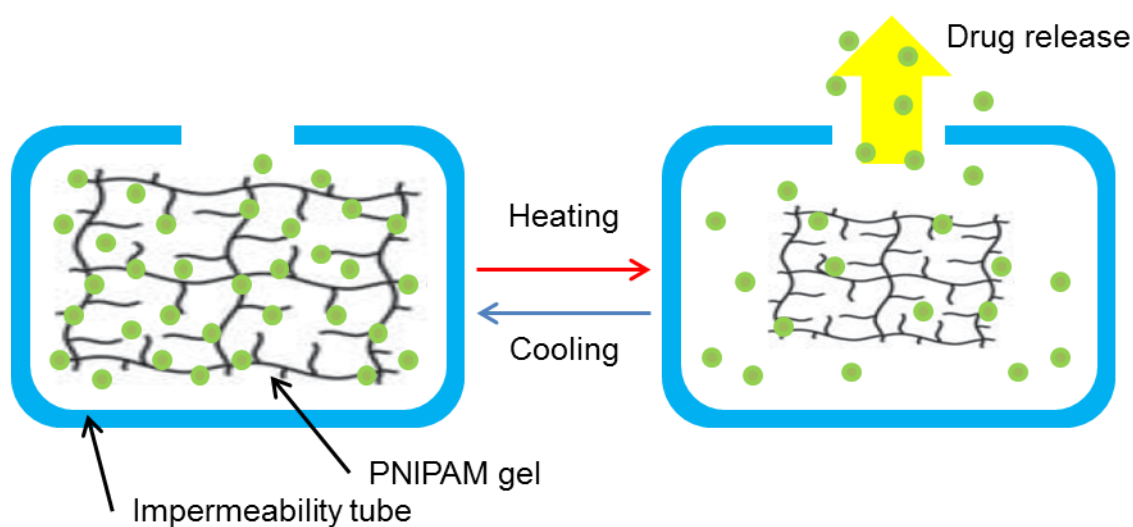


Fig. 1.9 熱応答性高分子ゲルを用いた drug delivery system の模式図

1.2.4 Mechanism of phase transition

PNIPAM の相転移前後の構造や性質に関しては、光散乱、示差走査型熱量計、熱量測定、理論計算、超音波分光、核磁気共鳴(NMR)、ラマン分光など多くの手法により様々な観点から研究がなされている。^[62-67]

PNIPAM と水との相互作用に関する研究は、NMR や IR 分光やラマン分光などにより構造、相互作用、微視的な個々の官能基変化を効果的に明らかにされてきた。^[68] Ozaki 等は低温で、PNIPAM と水和状態を表す amide bands のスペクトルが、加熱により C=O...NH 結合に変化することを明らかにした。^[69,70] ま

た Meada 等は低温ではカルボニル基は水和しているが、加熱により、カルボニル基の 13%は NH 基と結合していることを明らかにした。^[71,72] さらに彼らは、イソプロピル側鎖と PNIPAM の主鎖の CH 伸縮振動が低周波数側へシフトすることから、加熱による脱水が起きていることを明らかにした。これらの結果より、疎水性基からの脱水と親水基の水素結合の変化が相転移を引き起こすと考えられている。Saito 等の water cage の考えを併せると、低温では PNIPAM と水は水素結合を形成し、また PNIPAM の疎水性基を取り囲むように水分子が疎水性水和している。この状態から、加熱により、水素結合は切断され、分子内でアミド結合を形成し、PNIPAM 鎖全体を包むように疎水性水和が形成されると考えられる。

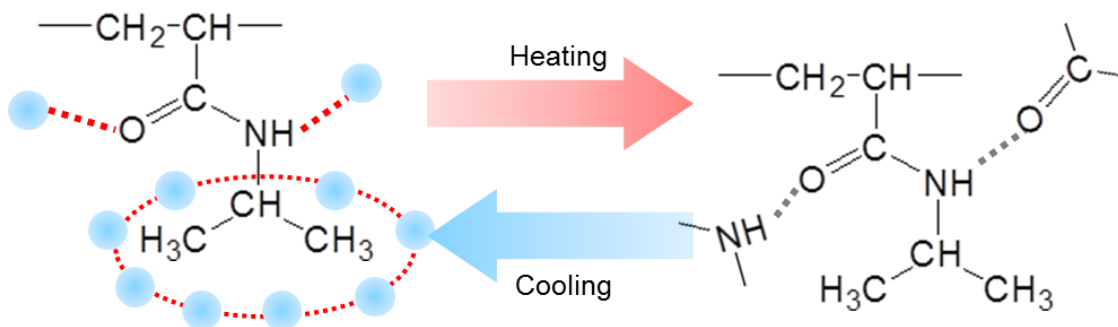


Fig. 1.10 PNIPAM 水溶液の相転移の模式図

また PNIPAM の構造やサイズに関する研究から、希薄溶液中では PNIPAM 鎖は十分に伸直したランダムコイル状態で水和していると考えら、PNIPAM は相転移温度を超えると、コイル状態から収縮した球状のグロビュール状態へと形状を変化させる。この coil-globule 構造転移は可逆的な応答を示す。NMR や IR 分光などの相転移時の水素結合量の減少と、アミド間結合量の上昇

と合わせて考えると、低温で溶解している PNIPAM は水と水素結合を形成し、大きく伸直したランダムコイル構造を取る。この状態から加熱されることにより、水素結合は切れ、分子内でアミド間結合を形成し、小さく球状に収縮したグロビュール構造を取ると考えられる。また濁度変化として観測される現象はグロビュール分子が疎水性相互作用により凝集するためと考えられる。(Fig. 1.11)

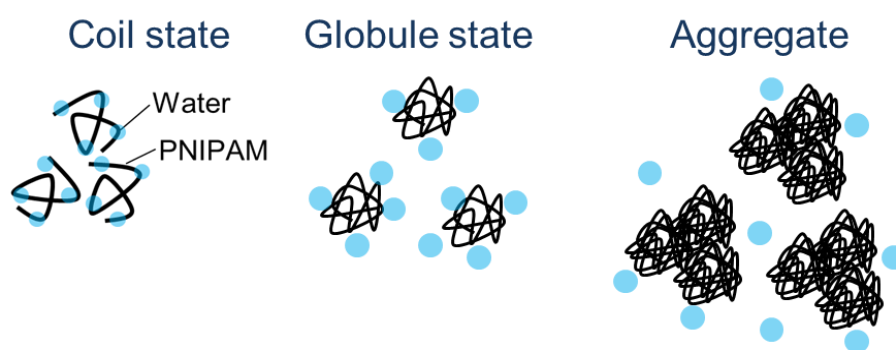


Fig. 1.11 水溶液中で様々な構造状態を保つ熱応答性高分子

1.2.5 Dynamics measurement of PNIPAM

これら多くの研究により、相転移前後の情報から、相転移現象について明らかにされてきた。一方、相転移の動的過程、反応速度定数や中間状態の特徴に関しては、蛍光プローブを用いた相転移における微視的な局所の構造の極性変化のモニタリングや、光の透過率変化を用いた相分離する際の巨視的な変化の測定などにより行われてきた。Wu 等は蛍光プローブ分子を PNIPAM 水溶液に添加し、相転移における蛍光強度、波長変化から相転移の初期に複数の段階があることを明らかにした。^[73,74] また坪井らは蛍光プローブを共重合させた PNIPAM を用いて時間分解蛍光測定を行い、相転移の時定数を明らかにした。^[75]

さらに坪井らは光の透過率変化をモニタリングした濁度測定から、PNIPAM が相転移し凝集する際の時定数を明らかにし、その分子量依存性について測定を行った。^[76]

しかし、これらの相転移、相分離の応答は連続した PNIPAM の構造変化過程であるにも関わらず、一連の相転移過程に関する測定は困難であった。原因はいくつか考えられるが、蛍光強度測定は局所的な PNIPAM の環境変化のみならず、凝集することによる光散乱の効果を反映してしまうことや、光の透過率は凝集体のサイズが光を散乱する数百マイクロメートルオーダーに成長する以前の応答に関しては測定が出来ないなどの点が挙げられる。そのため、水素結合や疎水性水和、分子内相互作用、疎水性相互作用などが複雑に変化する様子の観測が出来なかった。また分子間の会合が起きない程度の超希薄水溶液中で孤立した状態にある一本の PNIPAM 鎖が起こす温度変化に伴う圭携帯の変化を光散乱測定で追跡し、その構造を明らかにする試みされたが、光散乱法の時間分解能、感度的に効果的な測定方法でないと考えられる。これらの結果より、一連の PNIPAM の相転移のダイナミクスについて明らかになっておらず、相転移機構の解明は生体高分子の構造変化測定につながる大きな課題であると言える。

1.3 Time resolved spectroscopy analysis

光などの電磁波を用いて物質の定性、定量、物性を測定する手法は古くからおこなわれており、用いる電磁波の周波数帯により、X線分光、紫外線分光、可視光分光、赤外分光などに分類されてきた。これらの測定法は用いる周波数帯により電磁波の持つエネルギーが異なり、物質の異なる状態を観察することが出来る。また測定される物理量、いわゆる、吸収、蛍光、振動、ラマン散乱、光散乱や、分光法の原理、分光する目的、測定手法などによっても細かく分類されている。これらの手法は静的な物体の物性を測定することが可能なことから多くの測定が行われてきた。光を用いた測定の模式図を Fig. 1.12 に示す。光を照射された物質は物質の持つ電子が光の電場と相互作用し、照射した光は減衰し、照射された物質は光のもつエネルギーを受け取り励起される。その様子を測定するのが分光法の基本原理である。

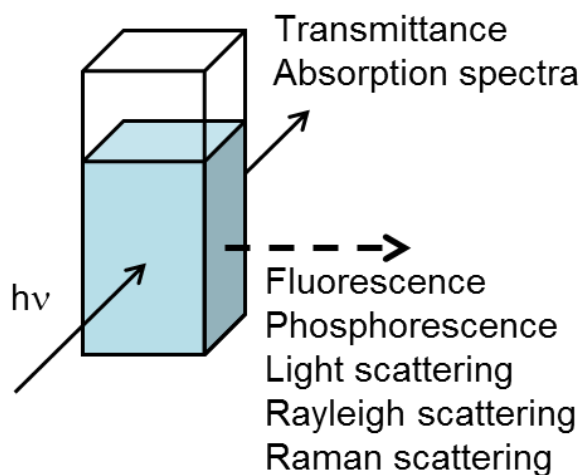


Fig. 1.12 光を用いた静的な様々な性的物性の測定法

またこれらの分光測定は、時間分解能を高めることで、光化学反応過程で時々刻々と変化する分子の物理的・化学的な情報を得る手法としても発展し

てきた。これを時間分解分光分析と呼ぶ。近年のレーザー技術の発達により、10 フェムト秒オーダーの超短パルス光を用いることで、高い時間分解能における測定が可能となってきた。Fig. 1.13 に物質の光励起後に起こる現象とその時間領域を示す。例えば、時間分解蛍光測定法を用いて液体中の分子の蛍光の失活過程を解析することで、分子の置かれている環境の微小領域の粘性や極性が分かったり、過渡吸収分光法を用いることで、固体中の電子やホールなどの失活過程を観察することでキャリア寿命が求められ、試料の欠陥状態が分かったりする。特に、タンパク質反応ダイナミクスを中心とした光化学反応の追跡には物質の光吸収スペクトル変化を利用した過渡吸収分光法が用いられている。^[77] また、蛍光検出においては、分子モーターの運動を観測するなど一分子分光の測定にも成功するなど、研究が進んでいる。^[78]

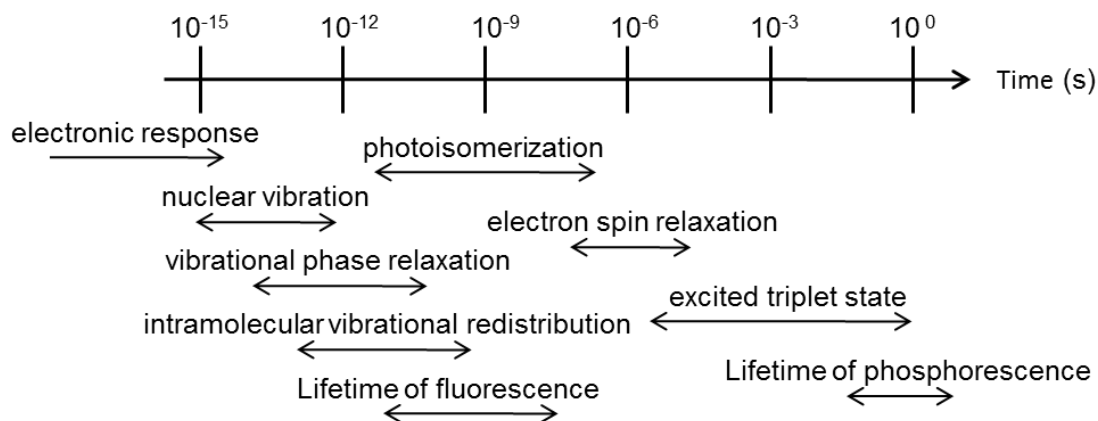


Fig. 1.13 物質の光励起後に起こる現象とその観測時間領域

1.3.1 Photo-thermal spectroscopy

上記のように、高速時間領域における光化学反応の分子ダイナミクスの計測法として、時間分解蛍光測定法や過渡吸収分光法に代表される励起状態の発光や吸収を観測する手法が広く用いられている。溶液中の化学反応について考えると、反応初期過程において溶媒和構造の変化や分子内・分子間エネルギー移動といった分子間相互作用が重要な役割を果たす。これらの現象はフェムト秒やピコ秒といった超高速時間領域で進行するため、その解明には短寿命の励起種ダイナミクス研究が必要不可欠であるが、非蛍光性で過渡吸収も弱く、反応・緩和ダイナミクスの解明は困難であった。他の多くの過程についても、過渡吸収分光法では光化学反応過程にスペクトル変化を伴う必要があり感度も低く、また、時間分解蛍光法では発光を伴わない多くのダイナミクスを見逃してしまうため、非蛍光物質、非蛍光過程について適用することは困難であった。

そこで、光吸収により発生する熱とその影響を高時間分解能で測定する手法として、光熱変換分光法が注目されてきた。^[79] 光熱変換分光法の基本原理は、”物質が光を吸収した際に、無輻射緩和過程を経て発生した熱を何らかの方法で、その発生量や時間応答を測定することで、物質の熱的、光学的、弾性的物性を得る” というものである。その起源は A. G. Bell によって発見された光音響効果までさかのぼる。^[80] Bell が提案した光音響効果測定装置を Fig. 1.14 に示す。^[81]

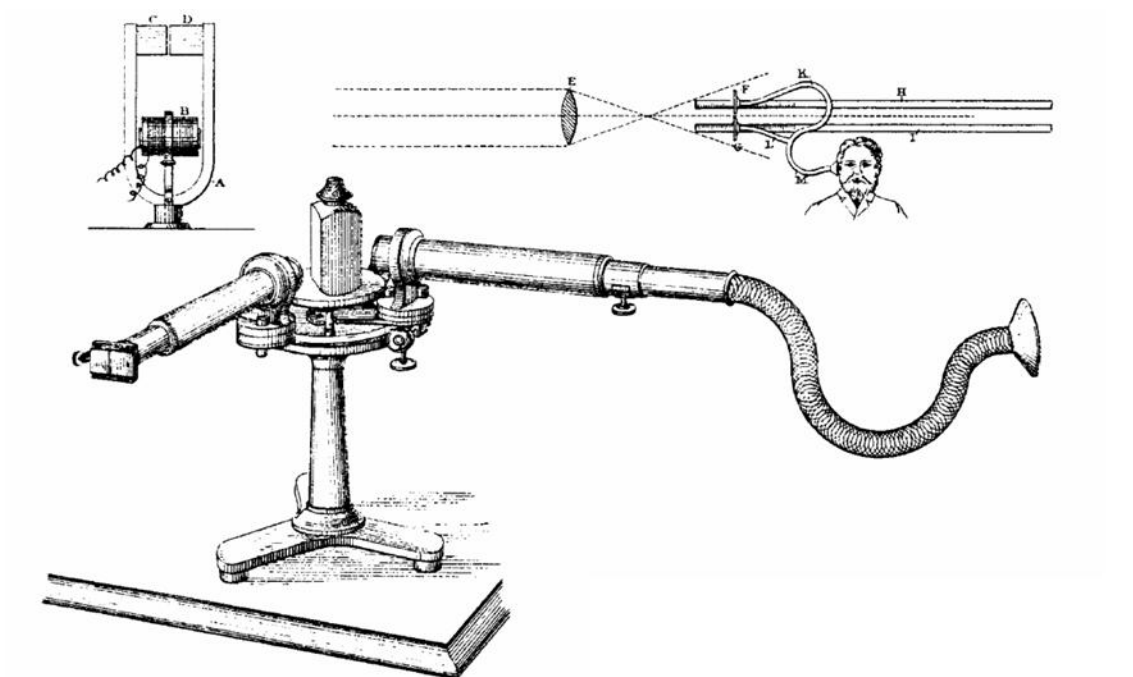


Fig. 1.14 Bell が提案した光音響効果測定装置

(A. G. Bell, *Philos. Mag.*, 1881, 11, 510.)

光音響効果は ”断続光を物質に照射すると、断続周波数と同じ周波数の音波を発生する” というもので、この音波は光を吸収した後に発生する熱により、物質もしくは中間媒体が膨張、収縮を繰り返すことで粗密波が生まれ、音波として伝導してくものである。光熱変換分光法は、おもに吸収係数、熱伝導率、比熱、弾性率などの物性値を求める手法であり、その特徴として、(1) 固体、液体、気体は当然ながら、固体表面、固-液界面、粉体、生体試料などほとんどの試料をその場測定できる。(2) 感度に優れている。(3) 非破壊で物質の内部情報を測定可能などの特徴を有していることが挙げられる。

現在、用いられている光音響分光法に用いられる光音響セルの概略図を Fig. 1.15 示す。^[82] 密閉した試料セルにチョッパーなどを用いて断続的な励起光を照射し、

熱などにより気体の膨張・収縮をマイクによって検出する。

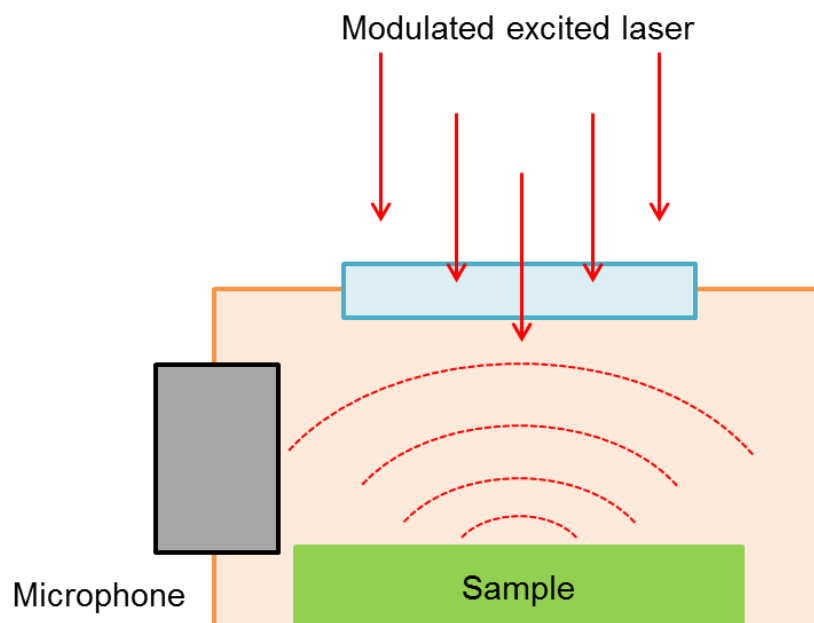


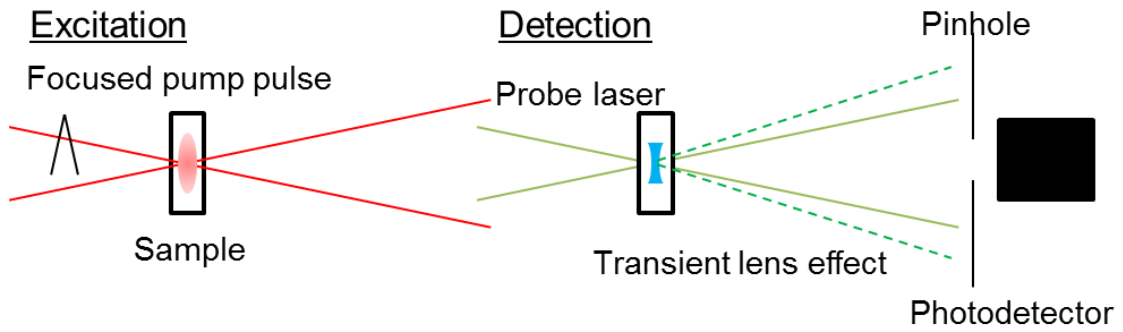
Fig. 1.15 光音響分光法に用いられる光音響セル測定装置

近年の光熱変換分光法の発展とともに、光吸収によって発生する音波だけでなく、物質の温度変化、屈折率変化、形状の変改などのさまざまな現象を測定対象とし、物質の一部が光励起された結果生じる屈折率の空間的不均一さ(勾配) を利用する手法を光熱変換分光法として開発が行われている。光吸収する分子が溶質として溶媒に均一に分散した一般的な溶液について考えると、分子が光を吸収して生成する励起分子は一般的に不安定な短寿命種で、一般に励起分子は、蛍光や燐光などの放射過程、内部変換・項換交差などの無輻射過程、化学反応でのエネルギー緩和を起す。このとき余剰のエネルギーは熱として溶媒に伝搬される。この励起分子が放出する熱を音波や、偏光、屈折率の変化として検出し定量を行う。光熱分光の手法は、光化学反応の追跡から高感度分析まで広範囲に応用されており、反応中間体の速度論的パラメータ(寿命、量子収率) と熱的なパラメータ(エネルギー) に関する情報が

得られ、光反応のメカニズムの確立に重要な測定手法である。^[83,84]

光熱変換分光法は、光と物質との相互作用を信号発生の基本原理とし、光熱変換効果から物質情報を得るために、さまざまは装置化が行われている。代表的な手法として、光を用いた試料の励起パターンによって過渡レンズ法、過渡回折格子法などに分類される。^[85-88] 前者は試料を集光レーザーによって局所的に励起することで、試料中にガウス関数型の空間分布を持った過渡的な屈折率変化を誘起するもので、空間分布の形状から過渡レンズ法と呼ばれている。^[89,90] 後者は試料を2本の交差させた励起光の干渉パターンを用いて、縞状に励起するもので、試料中の屈折率変化の形状から、過渡回折格子法と呼ばれている。両者はどちらも、試料をレーザー光によって空間特異的に励起し、励起された物質の屈折率変化を検出光を用いて観測する。これらの手法は感度に優れており、エンタルピー変化、ラジカルやイオン種の反応中間体のダイナミクスを測定することが可能である。また Fig. 1.13 に示すように広い時間領域で起こる様々な応答を測定を高い時間分解能で測定することが出来る。さらに過渡格子法はこれら化学種や励起種の拡散に関する情報を測定することが可能であり、光学遅延を用いることで、超高速応答の化学反応ダイナミクスを測定することもできる。^[91] 過渡レンズ法、過渡格子法の原理を Fig. 1.16 に示す。

Transient lens method



Transient grating method

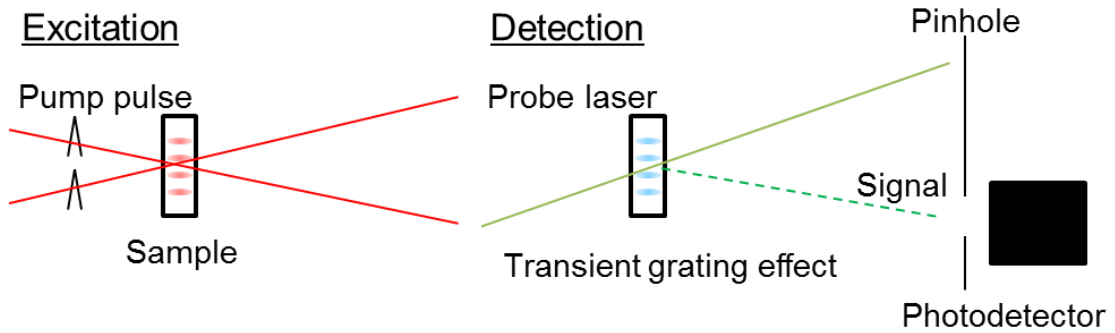


Fig. 1.16 過渡レンズ法、過渡格子法の測定原理図

1.4 Objective and outline of this thesis

以上、第一章ではまず、PNIPAM 水溶液の熱に可逆的に応答する相転移現象とその応用および、相転移前後の PNIPAM と水の相互作用についての研究を紹介した。これらの報告から、PNIPAM の構造や性質、応用に関する研究は多いものの、PNIPAM 水溶液の相転移現象のダイナミクスについては、部分的にしか明らかになっておらず、連続して起こる一連のダイナミクスに関する知見は得られていないのが現状と言える。そこで、本研究では、溶媒-溶質間の相互作用を過渡的な屈折率変化を通して観測することが可能な光熱変換分光法の一つである過渡格子法を、PNIPAM 水溶液の相転移ダイナミクス測定に用いることを提案する。特に過渡格子法を簡便・高感度に改良したヘテロダイン過渡格子法と、熱応答性高分子の相転移を光によって励起するレーザー温度ジャンプ法を導入した。続く第二章では、過渡格子法・ヘテロダイン過渡格子法の測定原理と、レーザー温度ジャンプ法について紹介する。続く第三章では、同測定法を用いて PNIPAM 水溶液の相転移ダイナミクスについて測定した結果を紹介する。第四章ではヘテロダイン過渡格子法による測定と別の視点から PNIPAM 水溶液の相転移を考察するため、近赤外光を導入した顕微鏡下で蛍光ラベルされた PNIPAM の相転移の誘起とその緩和過程の観察、および蛍光スペクトル測定を行った結果について報告する。続く第五章では、相転移による PNIPAM の物性変化を用いた応用として、金属細線と近赤外光を用いた局所相転移領域の生成と、相転移領域の極性環境などによる試料の局所的な濃縮法について紹介する。最後に第六章では本論文を総括する。

Reference

- [1] J. R. Telford, P. Wittung-Stafshede, H. B. Gray and J. R. Winkler, "Protein Folding Triggered by Electron Transfer", *Acc. Chem. Res.*, **1998**, 31, 755.
- [2] E. Chen, P. Wittung-Stafshede and D. S. Kliger, "Far-UV Time-Resolved Circular Dichroism Detection of Electron-Transfer-Triggered Cytochrome c Folding", *J. Am. Chem. Soc.*, **1999**, 121, 3811.
- [3] C. M. Jones, E. R. Henry, Y. Hu, C. K. Chan, S. D. Luck, A. Bhuyan, H. Roder, J. Hofrichter and W. A. Eaton, "Fast events in protein folding initiated by nanosecond laser photolysis", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1993**, 90, 11860.
- [4] S. Akiyama, S. Takahashi, K. Ishimori, I. Morishima, "Stepwise formation of alpha-helices during cytochrome c folding", *Nat Struct Biol.*, **2000**, 7, 514.
- [5] T. Uzawa, S. Akiyama, T. Kimura, S. Takahashi, K. Ishimori, I. Morishima and T. Fujisawa, "Collapse and search dynamics of apomyoglobin folding revealed by submillisecond observations of α -helical content and compactness", *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2004**, 101, 1171.
- [6] S-R. Yeh, S. Han and D. L. Rousseau, "Cytochrome c Folding and Unfolding: A Biphasic Mechanism", *Acc. Chem. Res.*, **1998**, 31, 727.
- [7] S-R. Yeh, I. J. Ropson and D. L. Rousseau, "Hierarchical Folding of Intestinal Fatty Acid Binding Protein", *Biochemistry*, **2001**, 40, 4205.
- [8] M. C. R. Shastry and H. Roder, "Evidence for barrier-limited protein folding kinetics on the microsecond time scale", *Nat Struct Biol.*, **1998**, 5, 285.
- [9] A. P. Capaldi, M. C. R. Shastry, C. Kleanthous, H. Roder and S. E. Radford, "Ultrarapid mixing experiments reveal that Im7 folds via an on-pathway intermediate", *Nat Struct Biol.*, **2001**, 8, 68.
- [10] S. Abbruzzetti, C. Viappiani, J. R. Small, L. J. Libertini and E. W. Small, "Kinetics of Histidine Deligation from the Heme in GuHCl-Unfolded Fe(III) Cytochrome c Studied by a Laser-Induced pH-Jump Technique", *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 6649.
- [11] R. B. Dyer, F. Gai and W. H. Woodruff, "Infrared Studies of Fast Events in Protein Folding", *Acc. Chem. Res.*, **1998**, 31, 709.
- [12] D. M. Vu, J. K. Myers, T. G. Oas and R. B. Dyer, "Probing the Folding and Unfolding Dynamics of Secondary and Tertiary Structures in a Three-Helix Bundle Protein", *Biochemistry*, **2004**, 43, 3582.
- [13] T. Yoshidome, M. Kinoshita, S. Hirota, N. Baden, M. Terazima, "Thermodynamics of apoplastocyanin folding: comparison between experimental and theoretical results", *J. Chem. Phys.*, **2008**, 128, 225104
- [14] N. Baden, S. Hirota, T. Takabe, N. Funasaki and M. Terazima, "Thermodynamical properties of reaction intermediates during apoplastocyanin folding in time domain", *J. Chem. Phys.*, **2007**, 127, 175103.
- [15] S. Hirota, Y. Fujimoto, J. Choi, N. Baden, N. Katagiri, M. Akiyama, R. Hulsker, M. Ubbink, T. Okajima, T. Takabe, N. Funasaki, Y. Watanabe and M. Terazima, "Conformational Changes during Apoplastocyanin Folding Observed by Photocleavable Modification and Transient Grating", *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, 128, 7551.
- [16] A. S. Hoffman, "intelligent polymers in medicine and biotechnology", *Macromol.*

- Symp., **1995**, 98, 645.
- [17] N. Yamada, T. Okano, H. Sakai, F. Karikusa, Y. Sawasaki and Y. Sakurai, “Thermo-responsive polymeric surfaces; control of attachment and detachment of cultured cells”, *Macromol. Rapid. Commun.*, **1990**, 11, 571.
- [18] D. Schmaljohann, “Thermo- and pH-responsive polymers in drug delivery”, *Adv. Drug Delivery Rev.*, **2006**, 58, 1655.
- [19] T. Tanaka, “Collapse of Gels and the Critical Endpoint”, *Phys. Rev. Lett.*, **1978**, 40, 820.
- [20] M. Shibayama, T. Tanaka and C. C. Han, “Small angle neutron scattering study on poly(N-isopropyl acrylamide) gels near their volume-phase transition temperature”, *J. Chem. Phys.*, **1992**, 97, 6829.
- [21] M. Heskins and J. E. Guillet, “Solution Properties of Poly(N-isopropylacrylamide)”, *J. Macromol. Sci., Part A: -Chemistry*, **1968**, 2, 1441.
- [22] N.A. Peppas, P. Bures, W. Leobandung and H. Ichikawa, “Hydrogels in pharmaceutical formulations”, *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **2000**, 50, 27.
- [23] Y. H. Bae, T. Okano and S. W. Kim, “Temperature dependence of swelling of crosslinked poly(N,N'-alkyl substituted acrylamides) in water”, *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys.*, **1990**, 28, 923.
- [24] K. Suwa, K. Morishita, A. Kishida and M. Akashi, “Synthesis and functionalities of poly(N-vinylalkylamide). V. Control of a lower critical solution temperature of poly(N-vinylalkylamide)”, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **1997**, 35, 3087.
- [25] R. A. Horne, J. P. Almeida, A. F. Day and N. T. Yu, “Macromolecule hydration and the effect of solutes on the cloud point of aqueous solutions of polyvinyl methyl ether: A possible model for protein denaturation and temperature control in homeothermic animals”, *J. Colloid Interface Sci.*, **1971**, 35, 77.
- [26] T. Ishizone and M. Ito, “Synthesis of well-defined poly(N-isopropylacrylamide) by the anionic polymerization of N-methoxymethyl-N-isopropylacrylamide”, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.*, **2002**, 40, 4328.
- [27] T. Kitayama, M. Shibuya and K. Katsukawa, “Synthesis of Highly Isotactic Poly(N-isopropylacrylamide) by Anionic Polymerization of a Protected Monomer”, *Polym. J.*, **2002**, 34, 405.
- [28] C. Schilli, M. G. Lanzendorfer and A. H. E. Muller, “Benzyl and Cumyl Dithiocarbamates as Chain Transfer Agents in the RAFT Polymerization of N-Isopropylacrylamide. In Situ FT-NIR and MALDI-TOF MS Investigation”, *Macromolecules*, **2002**, 35, 6819.
- [29] A. Goto, Y. Kwak, T. Fukuda, S. Yamago, K. Iida, M. Nakajima and J. Yoshida, “Mechanism-Based Invention of High-Speed Living Radical Polymerization Using Organotellurium Compounds and Azo-Initiators”, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 8720.
- [30] S. Yamago, B. Ray, K. Iida, J. Yoshida, T. Tada, K. Yoshizawa, Y. Kwak, A. Goto and T. Fukuda, “Highly Versatile Organostibine Mediators for Living Radical Polymerization”, *J. Am. Chem. Soc.*, **2004**, 126, 13908.
- [31] P. Kujawa, F. Tanaka and F. M. Winnik, “Temperature-Dependent Properties of Telechelic Hydrophobically Modified Poly(N-isopropylacrylamides) in Water: Evidence from Light Scattering and Fluorescence Spectroscopy for the Formation of

- Stable Mesoglobules at Elevated Temperatures”, *Macromolecules*, **2006**, 39, 3048.
- [32] P. Kujawa, H. Watanabe, F. Tanaka and F. M. Winnik, “Amphiphilic telechelic poly (N-isopropylacrylamide) in water: From micelles to gels”, *Eur. Phys. J. E*, **2005**, 17, 129.
- [33] T. Koga, F. Tanaka, T. Motokawa, S. Koizumi and F. M. Winnik, “Theoretical Modeling of Associated Structures in Aqueous Solutions of Hydrophobically Modified Telechelic PNIPAM Based on a Neutron Scattering Study”, *Macromolecules*, **2008**, 41, 9413.
- [34] Y. Maeda, T. Higuchi and I. Ikeda, “Change in Hydration State during the Coil–Globule Transition of Aqueous Solutions of Poly(N-isopropylacrylamide) as Evidenced by FTIR Spectroscopy”, *Langmuir*, **2000**, 16, 7503.
- [35] F. Tanaka, T. Koga, H. Kojima and F. M. Winnik, “Temperature- and Tension-Induced Coil–Globule Transition of Poly(N-isopropylacrylamide) Chains in Water and Mixed Solvent of Water/Methanol”, *Macromolecules*, **2009**, 42, 1321.
- [36] R. Walter, J. Ricka, C. Quellet, R. Nyffenegger and T. Binkert, “Coil–Globule Transition of Poly(N-isopropylacrylamide): A Study of Polymer–Surfactant Association”, *Macromolecules*, **1996**, 29, 4019.
- [37] E. I. Tiktopulo, V. E. Bychkova, J. Ricka and O. B. Ptitsyn, “Cooperativity of the Coil-Globule Transition in a Homopolymer: Microcalorimetric Study of Poly(N-isopropylacrylamide)”, *Macromolecules*, **1994**, 27, 2879.
- [38] Y. Xia, X. Yin, N. A. D. Burke and H. D. H. Stover, “Thermal Response of Narrow-Disperse Poly(N-isopropylacrylamide) Prepared by Atom Transfer Radical Polymerization”, *Macromolecules*, **2005**, 38, 5937.
- [39] C. M. Schilli, A. H. E. Muller, E. Rizzardo, S. H. Thang and Y. K. Chong, “*Advances in Controlled/Living Radical Polymerization*”, K. Matyjaszewski ed., ACS symp. Ser., 854, ACS, Washington, DC, pp603, **2003**.
- [40] B. Ray, Y. Isobe, K. Morioka, S. Habaue, Y. Okamoto, M. Kamigaito and M. Sawamoto, “Synthesis of Isotactic Poly(N-isopropylacrylamide) by RAFT Polymerization in the Presence of Lewis Acid”, *Macromolecules*, **2003**, 36, 543.
- [41] B. Ray, Y. Isobe, K. Morioka, S. Habaue, Y. Okamoto, M. Kamigaito and M. Sawamoto, “RAFT Polymerization of N-Isopropylacrylamide in the Absence and Presence of Y(OTf)₃: Simultaneous Control of Molecular Weight and Tacticity”, *Macromolecules*, **2004**, 37, 1702.
- [42] B. Ray, Y. Okamoto, M. Kamigaito, M. Sawamoto, K. Seno, S. Kanaoka and S. Aoshima, “Effect of Tacticity of Poly(N-isopropylacrylamide) on the Phase Separation Temperature of Its Aqueous Solutions”, *Polym. J.*, **2005**, 37, 234.
- [43] P. M. Reddy and P. Venkatesu, “Ionic Liquid Modifies the Lower Critical Solution Temperature (LCST) of Poly(N-isopropylacrylamide) in Aqueous Solution”, *J. Phys. Chem. B*, **2011**, 115, 4752.
- [44] Y. Ding, X. Ye and G. Zhang, “Microcalorimetric Investigation on Aggregation and Dissolution of Poly(N-isopropylacrylamide) Chains in Water”, *Macromolecules*, **2005**, 38, 904.
- [45] P. H. Corkhill, A. M. Jolly, C. O. Ng and B. J. Tighe, “Synthetic hydrogels: 1. Hydroxyalkyl acrylate and methacrylate copolymers - water binding studies”, *Polymer*, **1987**, 28, 1758.

- [46] E. C. Cho, J. Lee and K. Cho, "Role of Bound Water and Hydrophobic Interaction in Phase Transition of Poly(N-isopropylacrylamide) Aqueous Solution", *Macromolecules*, **2003**, 36, 9929.
- [47] K. Otake, H. Inomata, M. Konno and S. Saito, "Thermal analysis of the volume phase transition with N-isopropylacrylamide gels", *Macromolecules*, **1990**, 23, 283.
- [48] Y. G. Takei, T. Aoki, K. Sanui, N. Ogata, T. Okano and Y. Sakurai, "Temperature-responsive bioconjugates. 2. Molecular design for temperature-modulated bioseparations", *Bioconjugate Chem.*, **1993**, 4, 341.
- [49] G. V. Franks, "Stimulant sensitive flocculation and consolidation for improved solid/liquid separation", *J. Colloid Interface Sci.*, **2005**, 292, 598.
- [50] M. Hiraide and A. Morishima, "Collection of Traces of Heavy Metals on a Thermally Reversible Polymer for the Analysis of River Water and Seawater", *Anal. Sci.*, **1997**, 13, 829.
- [51] T. Saitoh, T. Ohyama, T. Sakurai, T. Kaise, K. Takamura, Y. Suzuki and C. Matsubara, "Polymer-mediated extraction of 8-quinolinolato metal chelates for the determination of metal ions in water with graphite furnace atomic absorption spectrometry", *Talanta*, **1998**, 46, 541.
- [52] T. Saitoh, M. Haga, T. Sakurai, T. Kaise, and C. Matsubara, "Polymer-Mediated Extraction for Microplate Reader Spectrophotometric Determination of ppb-Level Copper(II) Ion in Water", *Anal. Sci.*, **1998**, 14, 929.
- [53] T. Saitoh, S. Ohkubo and C. Matsubara, "Polymer-Mediated Extraction of Porphirinato Chelates for a Spectrophotometric Approach to Sub-ppb Level Detection of Metal Ions" *Chem. Lett.*, **1999**, 28,151.
- [54] C. Matsubara, N. Kikuchi, I. Denpouya and K. Takamura, "A New Preconcentration Method of Hydrophobic Substances in Water Using Polyvinylmethylether as a Thermo-responsive Polymer. Application to Spectrophotometric Determination of a Trace Amount of Phosphate in Natural Water" *Chem. Lett.*, **1993**, 22, 849.
- [55] T. Saitoh, T. Ohyama, K. Takamura, T. Sakurai, T. Kaise and C. Matsubara, "Extraction of Iron(II)-Tris(1, 10-phenanthrolinato) Chelate into the Polymer Phase Formed from an Aqueous Solution of Poly(N-isopropylacrylamide)" *Anal. Sci.*, **1997**, 13, 1.
- [56] K. Fujinaga, Y. Yamoto, Y. Seike and M. Okumura, "An Attempt to Develop the Hybrid Liquid-Solid Extraction Method-Centrifugal Phase Separation using Poly(N-isopropylacrylamide) as an Adsorbent" *Anal. Sci. Suppl.*, **1997**, 13, 141.
- [57] T. Saitoh, K. Asano and M. Hiraide, "Removal of phenols in water using chitosan-conjugated thermo-responsive polyme" *J. Hazard. Mater.*, **2011**, 185, 1369.
- [58] C. Matsubara, S. Izumi, K. Takamura, H. Yoshioka and Y. Mori, "Determination of trace amounts of phosphate in water after preconcentration using a thermally reversible polymer" *Analyst*, **1993**, 118, 553.
- [59] H. Kanazawa, M. Nishikawa, A. Mizutani, C. Sakamoto, Y. Morita-Murase, Y. Nagata, A. Kikuchi and T. Okano, "Aqueous chromatographic system for separation of biomolecules using thermoresponsive polymer modified stationary phase", *J. Chromatogr. A*, **2008**, 1191, 157.
- [60] T. Shimada, K. Ookubo, N. Komuro, T. Shimizu and N. Uehara, "Blue-to-Red Chromatic Sensor Composed of Gold Nanoparticles Conjugated with

- Thermoresponsive Copolymer for Thiol Sensing”, *Langmuir*, **2007**, 23, 11225.
- [61] Y. H. Bae, T. Okano, R. Hsu and S. W. Kim, “Thermo-sensitive polymers as on-off switches for drug release”, *Macromol. Rapid Commun.*, **1987**, 8, 481.
- [62] H. Cheng, L. Shen and C. Wu, “LLS and FTIR Studies on the Hysteresis in Association and Dissociation of Poly(N-isopropylacrylamide) Chains in Water”, *Macromolecules*, **2006**, 39, 2325.
- [63] E. I. Tiktopulo, V. E. Bychkovan, J. Ricka and O. B. Ptitsyn, “Cooperativity of the Coil-Globule Transition in a Homopolymer: Microcalorimetric Study of Poly(N-isopropylacrylamide)”, *Macromolecules*, **1994**, 27, 2879.
- [64] Y. Okada and F. Tanaka, “Cooperative Hydration, Chain Collapse, and Flat LCST Behavior in Aqueous Poly(N-isopropylacrylamide) Solutions”, *Macromolecules*, **2005**, 38, 4465.
- [65] K. V. Durme, L. Delellio, E. Kudryashov, V. Buckin and B. V. Mele, “Exploration of high-resolution ultrasonic spectroscopy as an analytical tool to study demixing and remixing in poly(N-isopropyl acrylamide)/water solutions”, *J. Polym. Sci., Part B: Polym. Phys.*, **2005**, 43, 1283.
- [66] P. V. Yushmanov, I. Furo and I. Iliopoulos, “Kinetics of Demixing and Remixing Transitions in Aqueous Solutions of Poly(N-isopropylacrylamide): A Temperature-Jump 1H NMR Study”, *Macromol. Chem.Phys.*, **2006**, 207, 1972.
- [67] J. Dybal, M. Trchova and P. Schmidt, “The role of water in structural changes of poly(N-isopropylacrylamide) and poly(N-isopropylmethacrylamide) studied by FTIR, Raman spectroscopy and quantum chemical calculations”, *Vib. Spectrosc.*, **2009**, 51, 44.
- [68] B. Sun, Y. Lin, P. Wu and H. W. Siesler, “A FTIR and 2D-IR Spectroscopic Study on the Microdynamics Phase Separation Mechanism of the Poly(N-isopropylacrylamide) Aqueous Solution”, *Macromolecules*, **2008**, 41, 1512.
- [69] Y. Katsumoto, T. Tanaka and Y. Ozaki, “Relationship between the coil-globule transition of an aqueous poly(N-isopropylacrylamide) solution and structural changes in local conformations of the polymer”, *Macromol. Symp.*, **2004**, 205, 209.
- [70] Y. Katsumoto, T. Tanaka, H. Sato and Y. Ozaki, “Conformational Change of Poly(N-isopropylacrylamide) during the Coil–Globule Transition Investigated by Attenuated Total Reflection/Infrared Spectroscopy and Density Functional Theory Calculation”, *J. Phys. Chem. A*, **2002**, 106, 3429.
- [71] Y. Maeda, T. Nakamura and I. Ikeda, “Changes in the Hydration States of Poly(N-alkylacrylamide)s during Their Phase Transitions in Water Observed by FTIR Spectroscopy”, *Macromolecules*, **2001**, 34, 1391.
- [72] Y. Maeda, “IR Spectroscopic Study on the Hydration and the Phase Transition of Poly(vinyl methyl ether) in Water”, *Langmuir*, **2001**, 17, 1737.
- [73] X. Ye, Y. Lu, L. Shen, Y. Ding, S. Liu, G. Zhang and C. Wu, “How Many Stages in the Coil-to-Globule Transition of Linear Homopolymer Chains in a Dilute Solution?”, *Macromolecules*, **2007**, 40, 4750.
- [74] Y. Lu, X. Ye, J. Li, C. Li and S. Liu, “Kinetics of Laser-Heating-Induced Phase Transition of Poly(N-isopropylacrylamide) Chains in Dilute and Semidilute Solutions”, *J. Phys. Chem. B*, **2011**, 115, 12001.
- [75] Y. Tsuboi, Y. Yoshida, N. Kitamura and K. Iwai, “Phase transition dynamics of

- fluorescent-labeled poly(N-isopropylacrylamide) in aqueous solution as revealed by time-resolved spectroscopy combined with a laser T-jump technique”, *Chem. Phys. Lett.*, **2009**, 468, 42.
- [76] Y. Tsuboi, Y. Yoshida, K. Okada and N. Kitamura, “Phase Separation Dynamics of Aqueous Solutions of Thermoresponsive Polymers Studied by a Laser T-Jump Technique”, *J. Phys. Chem. B*, **2008**, 112, 2562.
- [77] J. Choi, C. Yang, J. Kim and H. Ihee, “Protein Folding Dynamics of Cytochrome c Seen by Transient Grating and Transient Absorption Spectroscopies”, *J. Phys. Chem. B.*, **2011**, 115, 3127.
- [78] T. Funatsu, Y. Harada, M. Tokunaga, K. Saito and T. Yanagida, “Imaging of single fluorescent molecules and individual ATP turnovers by single myosin molecules in aqueous solution”, *Nature*, **1995**, 374, 555.
- [79] A. Harata and T. Sawada, “Quantitative depth profiling with photoacoustic spectroscopy using a new approximation method based on inversion of the Laplace transform”, *J. Appl. Phys.*, **1989**, 65, 959.
- [80] A. G. Bell, “On the Production and Reproduction of Speech by Light”, *Am. J. Sci.*, **1880**, 20, 305.
- [81] A. G. Bell, “Upon the production of sound by radiant energy”, *Philos. Mag.*, **1881**, 11, 510.
- [82] S. Oda, T. Sawada and H. Kamada, “Determination of ultratrace cadmium by laser-induced photoacoustic absorption spectrometry”, *Anal. Chem.*, **1978**, 50, 865.
- [83] T. Kitamori and T. Sawada, “Novel analytical and chemometric applications of photothermal spectroscopy”, *Spectrochim Acta Rev.*, **1991**, 14, 275.
- [84] H. Coufal, “Photothermal spectroscopy and its analytical application”, *Fresenius’ J. Anal. Chem.*, **1990**, 337, 835.
- [85] A. Yariv, “*Quantum Electronics, 3rd ed.*”. John Wiley, p106, **1989**.
- [86] J. P. Gordon, R. C. C. Leite, R. S. Moore, S. P. S. Porto and J. R. Whinnery, “Long-Transient Effects in Lasers with Inserted Liquid Samples”, *J. Appl. Phys.*, **1965**, 36, 3.
- [87] H. J. Eichler, P. Gunter and D. W. Pohl, “*Laser-induced Dynamic gratings*”, Berlin, **1986**.
- [88] A. Harata, Q. Shen and t, Sawada, “PHOTOTHERMAL APPLICATIONS OF LASERS: Study of Fast and Ultrafast Photothermal Phenomena at Metal-Liquid Interfaces”, *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **1999**, 50, 193.
- [89] S. E. Bialkowski, “*Photothermal spectroscopy methods for chemical analysis*”, John Wiley, **1996**.
- [90] M. Terazima, “Transient lens spectroscopy in a fast time scale”, *Israel J. Chem.*, **1998**, 38, 143.
- [91] K. Ito, H. Yui and T. Sawada, “Ultrafast lensing effect of β -carotene in n-hexane solution”, *Chem. Phys. Lett.*, **1997**, 275, 349.

Chapter 2

Principle of transient grating method & laser temperature jump method

2.1 Introduction

本章では過渡回折格子法、およびヘテロダイン過渡格子法の原理、熱応答を光によって励起するためのレーザー温度ジャンプ法について紹介を行う。

前章で記述したように、光を用いた分析法の多くは蛍光や吸収変化の測定を基礎としており、そのどちらの応答も示さない過程に関して測定が困難であった。そこで、光吸収した後に発生する熱変化を利用した光熱変換分光法が発達してきた。中でも励起種や中間種の拡散や寿命に関する情報を得ることが出来る過渡回折格子法は物質の状態、いわゆる、固体・液体・界面などの状態によらず、また、反射型・透過型と条件にあわせた光学配置が可能のため、広く光化学反応ダイナミクス解析に用いられてきた。

一方、熱応答性高分子は熱により相転移が誘起されるため、光を用いた高い時間分解能での相転移ダイナミクスの測定は困難であった。そこで、光のエネルギーを熱エネルギーに瞬間的に変換し、溶液温度を上昇させるレーザー温度ジャンプ法の導入を行った。

2.2 Transient grating method

過渡回折格子(Transient grating; TG) 法は、3つの光を試料に入力することで、発生する4番目の光を信号として検出する、4光波混合分光(3次の非線形分光)の一種である。^[1] 2本の同じ波長の励起パルス光を試料に同時刻・同位相で交差させることによって干渉縞が作られ、試料が縞状の光強度分布(干渉縞)により空間特異的に励起され、熱や励起種、化学種などにより過渡的な縞状の屈折率分布、過渡格子を形成することを特徴とし、試料中の過渡的に生成する化学種の寿命や拡散に関する応答の高感度な測定を行える。過渡回折格子法の信号強度は、試料の屈折率変化と吸収変化の2乗の和に比例する。過渡格子応答は、格子の形成や減衰の時間応答を観測することで、光励起後の試料で起こる様々な過程についての知見を得ることが可能であり、詳細な分子論的研究を行えるのが大きな特徴と言える。また入力3つの光の波長や偏光、4番目の信号光の偏光などがそれぞれ独立にコントロール可能であるため、3次の非線形感受率の核成分を独立に測定できる非常に自由度の高い分光法であると言える。

過渡回折格子法は1975年に Phillionらがパルスポンプ-プローブ法にもとづく、時間分解測定法を導入したことで、レーザー光のパルス幅程度の高い時間分解能を持つ測定として発展し、高感度・高時間分解能とあわせもつ計測法として時間分解計測の分野でさまざまな研究がなされている。^[2] 光の干渉性を利用し縞状の光強度分布を生成すると、試料表面に無輻射緩和過程と熱膨張過程により、縞状の温度分布を効率よく励起できる。その屈折率の時間・空間的な変化を別の光(検出光)を用いて非接触的に測定を行う。この方法では、回折された光を時間分解測定することによって、光励起キャリアーの緩和プロセス、無複写緩和に伴う光熱変換過程、その後の熱拡散過程、弾性波電波の動的な挙動を追跡できる。1975年以降、過渡回折格子法は、熱拡散、半導体中のキャリアー拡散、レーザー励起格子超音波などさまざまな測定に

応用されてきた。^[3-8]

2.2.1 Principle of transient grating method

過渡回折格子法は縞状の光強度分布によって試料を励起することを大きな特徴としている。2本の交差する同位相・同強度の平面波の光は干渉により縞状の光強度分布を作ることが知られている。交差する2本の励起光を次式のように表す。

$$E_1(r,t) = E_0 \exp \{i(k_1 r - \omega_1 t)\} \quad (2.1)$$

$$E_2(r,t) = E_0 \exp \{i(k_2 r - \omega_2 t)\} \quad (2.2)$$

ここで、 k_1, k_2 は光の波数ベクトル、 ω_1, ω_2 は光の振動数である。

このとき、2本の単色($\omega_1 = \omega_2$)で等しい強度(I_0)の平面光が交差することによって出来る干渉波は次式で表される。

$$E(r,t) = E_1(r,t) + E_2(r,t) \quad (2.3)$$

$$= E_0 \cos \left\{ \frac{1}{2} (k_1 - k_2) r \right\} \exp \left\{ i \left(\frac{1}{2} (k_1 + k_2) r - \omega t \right) \right\} \quad (2.4)$$

このとき光強度は次式のような空間周波数を持つ式として表される。

$$I(x,t) = 2I_0 \{1 - \cos(qx)\} \quad (2.5)$$

ここで、格子定数 $q = k_1 - k_2$ と定義した。 x は q 方向の単位ベクトルを表す。

励起光波長を λ_{ex} 、交差角度を 2θ 、とすると、格子間隔 Λ は

$$\Lambda \equiv 2\pi / q = \lambda_{ex} / 2 \sin \theta \quad (2.6)$$

で与えられる。

これらの式より、2本の励起光が交差することで、格子間隔 Λ を持つ光強度分布が生成し、光強度の強いところでは光と媒体が強く相互作用し、屈折率(Δn)あるいは吸収(Δk)の空間的変調(格子生成)が引き起こされる。

次に、縞状の光強度分布を持つ励起光に照射された物質について考える。光が物質中を透過するとき、光の電場成分が物質を構成している原子中の負の電荷を持つ電子に力を及ぼし、稼働させる。この光の電場により原子中の電子が中心位置より微小距離離れている状態を電気双極子と呼ぶ。光の電場は 1 秒間に 10^{14} 回振動していることから、電気双極子も同じ回数だけその向きを逆転させる。また、物質には無数の電気双極子が存在し、単位体積当たりの電気双極子を分極と呼ぶ。電子の稼働する距離、すなわち分極の大きさは、光電場の大きさによって変わることから、物質に光が照射されたときの物質の分極 \mathbf{P} と光電場 \mathbf{E} は次のように表すことが出来る。

$$\mathbf{P}(\mathbf{r}, t) = \varepsilon_0 \chi \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) \quad (2.7)$$

ここで、 ε_0 は誘電率で電氣的性質を表し、 χ は感受率で光電場によりどれくらい分極するかを表す。

また、レーザー光のように時空間的に光電場が大きい光を用いるとき、電子の動きが光電場に追従できなくなり、光電場に比例しない分極が発生する。この分極は、電場と同じ周波数で変化する成分と電場の n 倍で変化する成分の和として次のように表される。

$$\mathbf{P}(\mathbf{r}, t) = \varepsilon_0 [\chi^{(1)} \mathbf{E}(\mathbf{r}, t) + \chi^{(2)} \mathbf{E}^2(\mathbf{r}, t) + \chi^{(3)} \mathbf{E}^3(\mathbf{r}, t) + \dots] \quad (2.8)$$

ここで、 $\chi^{(n)}$ は非線形感受率を表す ($n=2, 3, 4, \dots$)。

過渡回折格子法は縞状に励起した媒体に検出用の光を照射するため、2 本の励起光と 1 本の検出光からなる電場を考えると次のように表すことが出来る。

$$\mathbf{E}(\mathbf{r}, t) = \mathbf{E}_1(\mathbf{r}, t) + \mathbf{E}_2(\mathbf{r}, t) + \mathbf{E}_3(\mathbf{r}, t) \quad (2.9)$$

ここで、 $\mathbf{E}_3(t)$ は検出光の電場で次のように表す。

$$\mathbf{E}_3(\mathbf{r}, t) = E_0 \exp \{i(k_3 r - \omega_3 t)\} \quad (2.10)$$

また、3本の光の足し合わせからなる光電場から受ける物質の分極は3次の非線形分極によって表される。

$$P^{(3)}(r,t) = \epsilon_0 \chi^{(3)} [E(r,t)]^3 \quad (2.11)$$

式 2.9 および 2.11 より、過渡回折格子法における物質と光電場の相互作用は、3次の非線形感受率の影響を受け、新しい波数ベクトルを持つ光が発生したり、入射光が変調を受けたりする。この屈折率あるいは吸収の空間変調により検出光が回折され、過渡格子信号となる。検出光と信号光の波数ベクトルを k_3, k_4 とすると $-k_4 + k_3 + q = 0$ が位相整合条件となる。Bragg 条件により回折される検出光を表している。Bragg 散乱による光強度の空間パターンを Fig. 2.1 に示す。^[9]

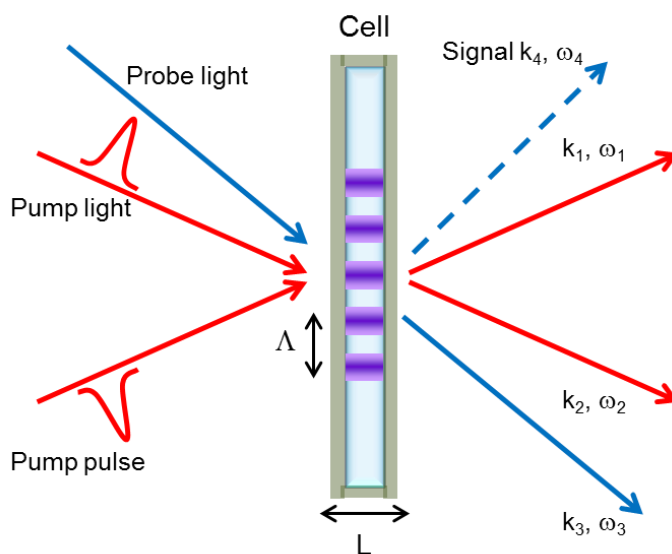


Fig. 2.1 Bragg 散乱による過渡回折格子法の概念図

Fig. 2.1 より、交差する2本の励起光により試料中に干渉縞が生成し、試料は縞状に光吸収し、過渡的な回折格子を生成する。このとき、検出光を入射すると、Bragg 散乱を満たす角度に信号光が検出される。また、試料の厚み(L) が薄い条

件では、縞状の光強度分布に垂直に検出光を入射するとき、Raman-Nath 散乱により信号光は全方向に発生する。

試料中の過渡格子の時間応答を観測する方法として、検出光を入射し、発生する信号光を直接検出するホモダイン検出が上げられる。

ホモダイン検出では信号光電場の 2 乗を信号として検出するため、信号光の電場の時間変化を $E_{sig}(t)$ とすると、検出される信号強度は次のように表される。

$$I_{\text{homo}}(t) = A |E_{sig}(t)|^2 \quad (2.12)$$

このとき、 A は定数を表す。

また、信号光は過渡格子を生成する励起光の強度(I_{ex})と検出光の電場(E_p) を用いて次のように表すことが出来る。

$$E_{sig}(t) = \chi(t)E_p I_{ex} \quad (2.13)$$

このとき、 $\chi(t)$ は感受率で光と物質の相互作用を表す物性値で、光の屈折と吸収に関する 2 つのパラメータからなる複素数であり、次のように表される。

$$\chi(t) = \chi'(t) + i\chi''(t) \quad (2.14)$$

したがって、信号光は次のように表される。

$$E_{sig}(t) = E_p (\chi'(t)I_{ex} + i\chi''(t)I_{ex}) \quad (2.15)$$

ここで、 $\chi'(t)I_{ex}$ は屈折率変化項、 $\chi''(t)I_{ex}$ は吸収変化項、 i は虚数単位を表す。

上記の式より、ホモダイン検出信号を展開すると、次のようになる。

$$I_{\text{homo}}(t) = A |\chi(t)E_p I_{ex}|^2 \quad (2.16)$$

$$I_{\text{homo}}(t) = A \chi(t)\chi(t)^* |E_p|^2 |I_{ex}|^2 \quad (2.17)$$

$$I_{\text{homo}}(t) = A I_p I_{ex}^2 (\chi'(t)^2 + \chi''(t)^2) \quad (2.18)$$

ここで I_p は検出に用いる光の強度を表す。

通常、 $\chi'(t) I_{ex}^2$ を屈折率変化 $\delta n(t)$ 、 $\chi''(t) I_{ex}^2$ を吸収変化 $\delta k(t)$ と表すので、式 2.18 を整理すると次のようになる。

$$\chi'(t) I_{ex}^2 = \delta n(t) \quad (2.19)$$

$$\chi''(t) I_{ex}^2 = \delta k(t) \quad (2.20)$$

$$I_{\text{homo}}(t) = A I_p (\delta n(t)^2 + \delta k(t)^2) \quad (2.21)$$

$$I_{\text{homo}}(t) \propto (\delta n(t)^2 + \delta k(t)^2) \quad (2.22)$$

式 2.22 より、ホモダイン信号は屈折率の寄与と吸収の寄与のそれぞれ 2 乗の和から形成されていることが分かる。これは回折された光電場 $E_{\text{sig}}(t)$ の絶対値 $|E_{\text{sig}}(t)|^2$ を光強度として検出するため、信号光のみを検出する、つまりバックグラウンドフリー分光なので光電子増倍管などの微弱光検出装置を用いてかなり弱い信号まで S/N よく測定できる。また位相に関する情報が必要ないので解析も単純という特徴がある。ただし、屈折に関する寄与と吸収に関する寄与が同時に検出されるため、その分離が困難となる場合がある。さらに光学系に関して、過渡吸収分光法や時間分解蛍光法に比べて導入が困難な点が存在する。過渡回折格子法を用いた光学系の一例を Fig. 2.2 に示す。

過渡回折格子法の光学系は 2 本の励起光を時空間的に一致させるために多くの光学機器を用いた対称系になり、交差させる角度の調整も困難になりやすく、光学遅延路を導入することで超高速分光測定にも対応可能だが光学系が大きく複雑になりやすい。また微弱な光を検出するための光電子増倍管などの高価な検出器が必要だと言われている。

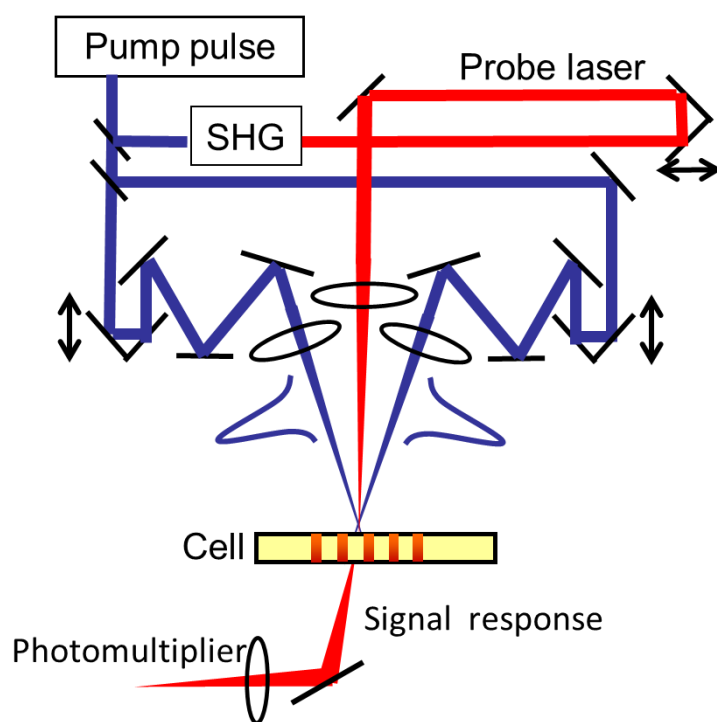


Fig. 2.2 過渡回折格子法を用いた典型的な光学系

2.3 Heterodyne transient grating method

渡格回折格子法はバックグラウンドフリーで高感度な検出を行えるのが特徴であるが、光学的には 2 本の励起光を干渉させるために、幾何学的に対称な配置が必要とされる。さらに超高速時間分解測定ではパルス光のタイミングを合わせる必要があり、数十 μm 程度の微小干渉領域に検出光を時空間的に重ね合わせなければいけないという、きわめて光学セットアップが複雑で扱いが難しい測定となっていた。

そこで、過渡回折格子法をより簡易な光学系で高感度に測定可能な測定手法としてヘテロダイン過渡格子(heterodyne transient grating; HD-TG) 法が開発されてきた。^[10-15] この測定法は、光熱変換を用いた分光法の一つであり、過渡回折格子法の発展型にあたる。開発の初期においては、フェーズマスクと呼ばれる特殊な回折格子とレンズを用いて、励起光・検出光・信号光を精密制御することで、信号の強度および選択性は向上したが、光学的なセットアップが複雑になる一面があった。そこで、近年ではさらに改良を重ね、透過型回折格子を用いた新しいヘテロダイン過渡格子法の開発が行われてきた。^[16-18] 過渡回折格子法では 2 本の励起光の干渉で生成していた縞状の光強度分布を、ヘテロダイン過渡格子法では透過型回折格子後方に生成する干渉縞で代用する。また参照光として検出光の一部を信号光とヘテロダイン検出することで、微弱な信号光を増幅し高感度測定を可能にした。ヘテロダイン過渡格子法は反射型配置にも変更可能であり、固体・液体・固液界面だけでなく、表面の凹凸の大きな微粒子固体や固体表面に関しても測定が行われてきた。^[19-25]

2.3.1 Principle of heterodyne transient grating method

ヘテロダイン過渡格子法は過渡回折格子法で用いた二つの励起光による過渡回折格子生成を、回折格子近傍に生成する回折光を用いて代用することを特徴とする。

スリットや回折格子などの障害物に光が入射するとき、光は障害物を回り込むように伝播する。^[26-29] これは光の波としての性質であり、回折と呼ばれている。ホイヘンスの原理より、入射した光が回折した次の瞬間の波面のそれぞれの点から、球面状の二次波が出ていると考えると、スリットによって回折された光はその伝搬距離によって分けることが出来る(Fig. 2.3)。ここで、光の波長 λ 、スリットの開口径 D 、スリットから観測面までの距離を R とする。

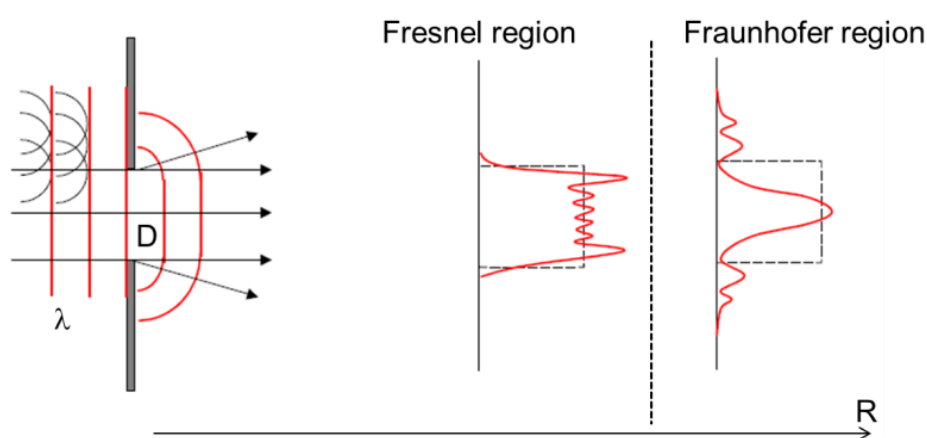


Fig. 2.3 スリットに回折される光の模式図

(光の波長 λ 、スリットの開口径 D 、スリットから観測面までの距離 R)

スリットにより回折された光は観測面において光の干渉として説明することが出来る。スリットから観測面までの距離 R が、 $R < D^2/\lambda$ の場合、フレネル回折と呼ばれ、十分離れている($R < D^2/\lambda$)の場合をフラウンホーファー回折と呼び、それぞれ異なる近似式を用いて表される。

回折格子においても光の回折現象はフレネル回折とフラウンホーファー回折の領域が生じる。また、フレネル領域において、回折格子から回折された光は複数のスリットにより回折された回折波の足し合わせとして、回折格子後方に回折格子と同じ間隔の光強度分布(干渉縞)を生じる。この干渉縞は回折格子からの観測面までの距

離 d において、周期的に生成され、Talbot 効果として知られている。回折格子の周期 Λ が光の波長 λ に比べて十分大きいとき、回折角は非常に小さくほぼ前方に回折されるため、回折光は干渉し合い、回折格子後方に干渉縞を生じる。この現象は 1836 年に Talbot によって発見された。^[30] その後の研究により、回折格子と等しい干渉縞が形成される距離は

$$d_{talbot} = 2m\Lambda^2 / \lambda \quad (2.23)$$

であることが Rayleigh によって明らかにされた。^[31]

m は自然数を表す。ここで、 $2m=1$ のとき、特に talbot 距離と呼ばれている。また

$$d_{talbot} = (2m + 1)\Lambda^2 / \lambda \quad (2.24)$$

のとき、生じる像は回折格子透過直後の像に対して、半周期分ずれた像となる。一般的にこれも含めて Talbot 効果と呼ぶことが多い為、これを踏まえると、Talbot 効果は回折格子からの距離が

$$d_{talbot} = m\Lambda^2 / \lambda \quad (2.25)$$

の観測面で起こることが分かる。^[32] Fig. 2.4 に回折格子により回折される光の模式図を示す。

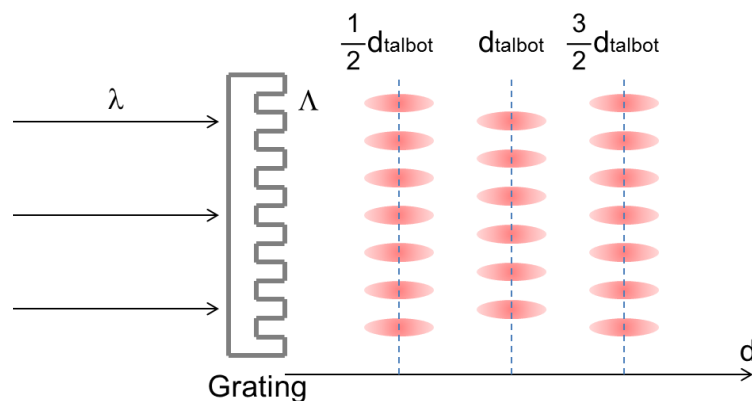


Fig. 2.4 回折格子により回折される光の Talbot 効果

回折格子の間隔と等しい縞状の光強度分布中に試料を置くことにより、試料を回折格子間隔と等しい縞間隔で励起が可能である。回折格子と励起光を用いて縞状の光強度分布を生成することで、従来の過渡回折格子法に比べ、光学系もシンプルになり、レンズを用いた集光系でないためビーム位置のずれがほとんど起こらない。また光学遅延路を用いて超高速分光にも対応が可能である。Talbot 効果を用いた縞状の光強度分布の生成と、試料の励起について Fig. 2.5 に示す。

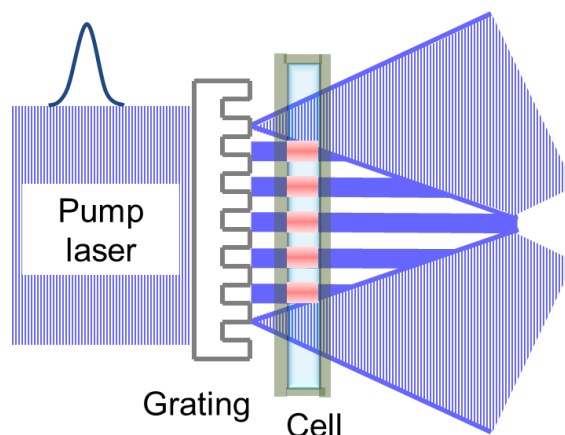


Fig. 2.5 透過型回折格子を用いた縞状の光強度分布の生成と試料の励起

試料中では過渡回折格子法と同様な理由で過渡格子が生成する。励起光と同軸方向から検出光を入射すると、回折格子を透過した光と、回折格子と過渡格子の両方により回折された光は原理的に同じ方向に出射される。(Fig.2.6)

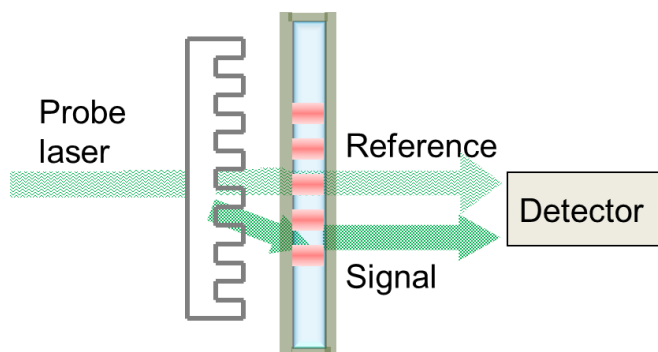


Fig. 2.6 ヘテロダイン過渡格子法による過渡格子信号の検出

したがって回折されずに透過した光(参照光, Reference) を検出することで、過渡格子で回折された光(信号光, Signal) が自動的に混合検出される。試料により摂動を受けた信号光と参照光を混合して検出することをヘテロダイン検出と呼び、従来の過渡格子法よりも高感度に信号を測定することができる。

ヘテロダイン信号とは、信号光と同軸に別の光(参照光) を入射し、信号光と干渉させ、同時に検出する方法である。ヘテロダイン信号は信号光電場と参照光電場の和の2乗として表せられる。

参照光の電場を E_{ref} とするとヘテロダイン信号は次のように表される。

$$I_{hetero}(t) = A | E_{sig}(t) + E_{ref} |^2 \quad (2.26)$$

ヘテロダイン検出信号を展開すると、次のように表される。

$$I_{hetero}(t) = A | (E_{sig}(t))^2 + (E_{ref})^2 + E_{sig}(t)E_{ref}^* + E_{ref}E_{sig}(t)^* | \quad (2.27)$$

また、ホモダイン信号項、および参照光強度を整理すると次のようになる。

$$I_{hetero}(t) = A | I_{homo}(t) + I_{ref} + E_{sig}(t)E_{ref}^* + E_{ref}E_{sig}(t)^* | \quad (2.28)$$

また参照光の電場 E_{ref} は次のように表される。

$$E_{ref} = ae^{i\Delta\phi} E_p \quad (2.29)$$

オイラーの式より三角関数に展開すると、次のように表される。

$$E_{ref} = aE_p (\cos \Delta\phi + i \sin \Delta\phi) \quad (2.30)$$

ここで、 a は定数、 $\Delta\phi$ は信号光と参照光の位相差を表す。

式 2.13 および式 2.30 を用いて、ヘテロダイン信号を整理すると次のようになる。

$$I_{hetero}(t) = I_{homo}(t) + I_{ref} + 2a(E_p)^2 I_{ex} (\chi'(t) \cos \Delta\phi + \chi''(t) \sin \Delta\phi) \quad (2.31)$$

ここで、 $\chi'(t) I_{ex}$ を屈折率変化 $\delta n(t)$ 、 $\chi''(t) I_{ex}$ を吸収変化 $\delta k(t)$ と置き、式 2.31 を整理すると次のようになる。

$$\chi'(t)I_{ex} = \delta n(t) \quad (2.32)$$

$$\chi''(t)I_{ex} = \delta k(t) \quad (2.33)$$

$$I_{hetero}(t) = I_{homo}(t) + I_{ref} + 2a(I_p(\delta n(t) \cos \Delta\phi + \delta k(t) \sin \Delta\phi)) \quad (2.34)$$

第一項はホモダイン検出信号で、第二項は参照光強度で信号のバックグラウンドとして観測される。第三項がヘテロダイン信号を表す。

このとき、 $E_{ref} \gg E_{sig}$ であり、信号強度をホモダイン検出信号強度に比べて何桁も増大することができるため、ホモダイン項を無視することが出来る。

よってヘテロダイン検出信号は以下のように表される。

$$I_{hetero}(t) \propto (\delta n(t) \cos \Delta\phi + \delta k(t) \sin \Delta\phi) \quad (2.35)$$

ホモダイン検出の場合とは異なり、大きなバックグラウンド光による装置のセットアップの容易さがあり、また、信号光強度もホモダイン検出に比べて何倍も大きいため、高価な検出器を用いる必要がなく、安価・簡便な手法だと言える。またホモダイン検出が屈折率や吸収変化の2乗に比例するのとは対照的に、信号強度が応答に対して線形になる特徴を持つ。また、ヘテロダイン信号の位相差 ϕ は回折格子と試料間の距離を変化させることで、制御することが出来る。

$$\phi = (2\pi / \lambda_{probe})\Delta l \quad (2.36)$$

$$= d(1/\cos \theta - 1)(2\pi / \lambda_{probe}) \quad (2.37)$$

ここで Δl は信号光と参照光の光路差、 d は回折格子-試料間距離、 θ は参照光の回折角である。したがって、回折格子-試料間距離を変化させることで、参照光と信号光の位相を調整し、ヘテロダイン信号中の $\cos\Delta\phi=0$ あるいは、 $\sin\Delta\phi=0$ とすることができ、吸収による寄与と屈折率の寄与を完全に分離できることから、信号の帰属が容易となる特徴を持つ。^[33]

試料の光吸収により生成する過渡的な回折格子の種類としては、大きく分けて吸収による寄与、(amplitude grating) と屈折による寄与(phase grating) がある。溶液などの透明な試料では、通常、検出光として試料に吸収のない波長の光を選択し、試料を透過した光を検出する。励起状態や生成された化学種の吸収に関する情報は過渡吸収法などの測定によって得ることが出来るため、屈折率に関する情報を選択的に測定すると、過渡的な回折格子の形成は、温度上昇、電子応答、分子配向、励起状態生成(伝導電子や励起子)、electrostriction, 体積変化などに起因する。^[34] 式 2.9 および 2.11 より、過渡回折格子法において物質に光電場が作用すると、物質の三次の非線形感受率の成分、つまり光の波長や吸光度、偏光方向などを制御し、それぞれを分離することによって、詳細な分子論的研究をするのが過渡回折格子法の大きな特徴である。試料を光励起することで起こる現象と、ヘテロダイン過渡格子法による測定から得られる情報を表に示す。^[35] 不透明な試料や表面現象を観測するには、検出光を表面で反射させ、その反射光による信号を観測することも行われる

Table 2.1 過渡格子法を用いて測定される現象と得られる応答

Time range	Typically observed phenomena	Obtained information
fs-ps	Non-radiative relaxation due to vibrational relaxation or structural change of molecules	Lifetime of each initial process
ps-ns	Population decay of the singlet excited state	Lifetime of excited states
ns- μ s	Acoustic wave generation and propagation	Reaction enthalpy, Molecular volume
μ s-ms	Thermal diffusion	Reaction enthalpy, Quantum efficiency of reaction
ms-s	Diffusion of photoproducts or reaction intermediates	Qualitative analysis of photoproducts or reaction intermediates

このように過渡回折格子法により観測される屈折率変化は様々な要因の寄与があり、また観測される時間領域も異なるが、屈折率変化の時間応答はそれらの寄与の足し合わせとして、以下のように表すことができる。

$$\Delta n(t) = \Delta n_1(t) + \Delta n_2(t) + \Delta n_3(t) + \dots \quad (2.38)$$

試料が励起されることで、上記のような要因で系の平衡点は変化し、平衡の回復、または新しい平衡点への移動が起きる。平衡点からのずれが充分小さいとき、屈折率変化の緩和速度は次に示す一次の反応式に従う。

$$-\frac{d(\Delta n)}{dt} = \frac{\Delta n}{\tau} \quad (2.39)$$

式を変形すると、次のように表される。

$$\Delta n = n_0 \exp(-t / \tau) \quad (2.40)$$

ここで、 n_0 は屈折率の初期値($t=0$) で、 Δn は時間 t 経過後の変化した値を示す。また過渡格子法により観測される応答は各成分の屈折率変化の指数関数的減衰の足し合わせで表すことができるため、観測される信号は次のように表される。

$$I(t) \propto \sum_i^n \Delta n_i \exp(-t / \tau_{lifetime}) \quad (2.41)$$

Δn は各成分の屈折率変化、 $\tau_{lifetime}$ は各成分の寿命を表す。

また化学種や励起種などによって生成された、過渡格子は格子間隔に対して拡散する過程と反応する過程として分離され、以下のように表すことができる。

[36-39]

$$\frac{1}{\tau} = D \left(\frac{2\pi}{\Lambda} \right)^2 + \frac{1}{\tau_{lifetime}} \quad (2.42)$$

ここで、 D は拡散係数を表す。

そのため、格子間隔を変えて過渡格子応答を測定することで、各成分の拡散係数と、反応過程つまり寿命に関する情報を得ることが出来る。

2.4 Relaxation method

化学平衡にある系において、熱を加えるとル・シャトリエの原理より平衡は移動する。また反応速度定数は反応系の温度に依存した値を取る(ファン・ホッフの式)。このように、一般的に化学反応は熱の影響を強く受けることが知られている。一方、光化学反応は光を用いて物質を電子励起し、その吸収変化や蛍光発光過程、無輻射失活により発生した熱などを、過渡吸収法や時間分解蛍光法、光熱変換分光法などにより測定する。この電子励起状態は反応性に富むが、光によって反応が進行する過程は熱化学反応に比べて一部であり、これらの測定法の適用範囲は限られていた。また熱化学反応の解析は光化学反応に比べて、与えるエネルギーの自由度、時間分解能、空間分解能に乏しく詳細な測定を行うことは困難であり、熱応答性高分子水溶液や生体高分子のように熱により反応が進行する過程を測定することは困難であった。そこで、光を用いて熱化学反応を測定するために、緩和法におけるレーザー温度ジャンプ法を導入する。

緩和法とは 1967 年にノーベル賞を受賞した **Manfred Eigen** により溶液中の早い化学反応の研究に用いられたのが初期研究とされる。^[40] 緩和法の基本的な考え方は、すでに平衡にある反応系を、平衡定数の値に影響を与える物理的なパラメータが急激に変わるような条件下に置くことで、新しい化学平衡状態に緩和する速度を測定する手法である。緩和の研究で通常使われるパラメータとして、温度、圧力、電場、pH、pOH などが上げられ、系の変化量として、吸収、蛍光、光散乱、円偏光二色性などが測定される。^[41-44]

2.4.1 Temperature jump method

温度や圧力などの緩和法で用いられる物理パラメータを急激に変化さ

せることをジャンプと呼ぶ。摂動として温度を急激に変化させる温度ジャンプ法は酵素反応系への研究において広く使われ、また緩和法の中でも溶液の反応速度論の研究で最も広く用いられている。温度ジャンプ法は平衡反応状態の混合物の温度を一定圧力下で突然変化させる。温度ジャンプの後、系は新しい温度に対応した新しい平衡状態に向かって緩和し、その正反応の速度定数と温度が緩和した後に観測される逆反応の速度定数が、系が新しい平衡状態へと緩和するのに必要な時間と関係している。Eigen らは酵素反応における生成・脱離などの多段階緩和過程にもジャンプ摂動による緩和法を導入し、その数学的扱いについて報告をしている。^[45]

Fig. 2.7 に Hoffman が用いた同軸ケーブル放電法を用いた温度ジャンプシステムの概略図を示す。^[46]

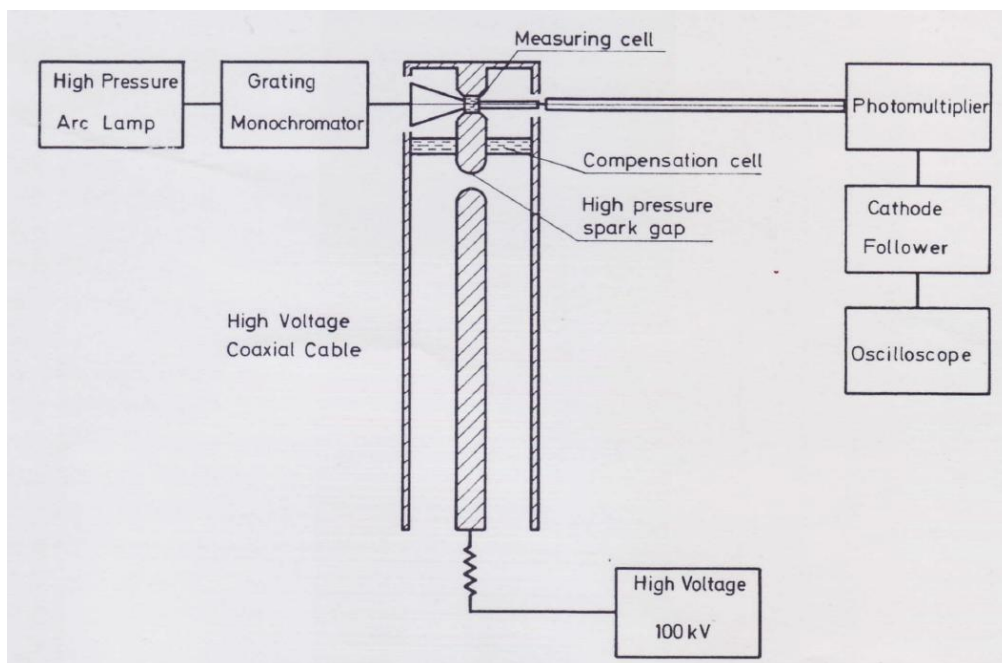


Fig. 2.7 Hoffman が用いた温度ジャンプシステムの概略図

(G. W. Hoffman, *Rev. Sci. Instrum.*, **42**, 1643, 1971.)

温度ジャンプさせる方法として Hoffman の実験のように、ジュール加熱が最も良く使用されてきた。実験的には反応溶液に高電圧のコンデンサーからの放電を通すことによって、5 μs 以内に温度を約 5 K 上昇させることが出来る。Hoffman 等は 100 kV の電圧をかけて放電し、50 ns の間にセル内の温度を 10 K 上昇させた。試料の様子は検出用の光をセルに入射し、過渡吸収測定を行った。セルの形状や電極の位置によって時間分解能は異なるが 2~20 μs 程度と言われている。Hoffman はジュール加熱温度ジャンプ測定を用いて、Ni-アミン化合物の脱水と平衡反応を明らかにし、また Porschke らはデカヌクレオチドの二量化反応について温度ジャンプ測定を行い、その平衡定数を求めている。^[47]

2.4.2 Laser temperature jump method

従来のジュール熱を用いた温度ジャンプ法の時間分解能が 2~20 μs 程度であるため、サブマイクロ秒領域の応答を調べることは不可能であった。一方、近年のレーザー技術の発展により、レーザーパルスを用いた高速加熱が行われてきている。Turner によってパルスレーザー光源を利用したレーザー温度ジャンプ法が開発された。^[48] レーザー温度ジャンプ法の分解能はパルス幅によって決定され、およそ数ナノ秒の早い時間分解能を持ち、温度ジャンプ幅はレーザー強度により決定され、およそ 25 ns で水溶液の温度を 5 K 上昇させることができる。

Turner のプロフラビンの 2 量化反応の測定に用いられたレーザー温度ジャンプシステムの概略図を Fig. 2.8 に示す。^[49] レーザー光を液体窒素の入った真空容器に入射し、光源の波長を溶媒の吸収に合わせてラマンシフトさせ、試料に集光照射する。同時検出光を照射し試料の過渡吸収を測定することで、レーザー温度ジャンプによって動いた平衡が緩和する応答を測定した。

レーザー温度ジャンプ法は、試料が吸収する波長をもった光パルスを試料に照射すると、極短時間に非常に大きなエネルギーを試料に与えることができる。この吸収したエネルギーを、分子が発光によって放出しなければ、試料の熱エネルギーに変換され、試料の温度が上昇する。

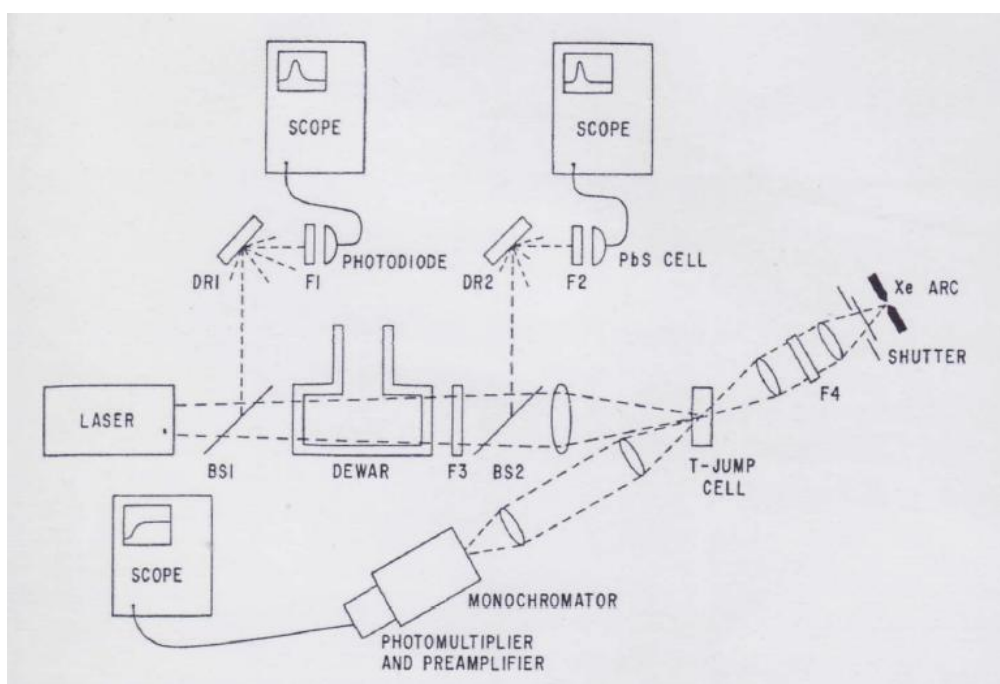


Fig. 2.8 Turner 等が用いたレーザー温度ジャンプシステムの概略図

(D. H. Turner et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 1554, 1972.)

具体的には光パルスを試料にどのように吸収させるかによって、①溶媒自体の吸収を利用する方法と②ヒーター分子として色素を添加する方法がある。Turner のように溶媒の吸収を利用する方法では、溶媒が吸収する波長に合わせた高出力のパルス光を用意する必要があるものの、試料に何も加える必要がない為、クリーンな実験条件を得ることが出来る為、生体高分子の研究に広く用いられてきた。ヒーター分子の吸収を利用する方法では、レーザー波長に合う色素を

使うことが可能で、また、色素の濃度調節により温度ジャンプ幅を制御できるため扱いやすい。試料に対する色素の影響を考慮さえ行えば、簡便な方法であると言える。

2.5 Summary

以上のように、本章では過渡回折格子法、およびヘテロダイン過渡格子法の原理、熱化学反応を光によって励起するためのレーザー温度ジャンプ法について紹介した。過渡格子法は屈折率を通して光化学反応ダイナミクスを測定する手法として多くの報告がされてきた。さらに、ヘテロダイン過渡格子法は過渡格子法をより簡便な手法へと発展させ、その利用の幅を広げてきた。また、光エネルギーを熱エネルギーに変換するレーザー温度ジャンプ法を用いることで、光によって試料を瞬間的に加熱することが可能であり、過渡格子などの光化学反応測定と組み合わせることで、光のみならず熱により反応が進行する平衡反応の解析や、熱応答性高分子の反応ダイナミクスの解析に有用な手段だと考えられる。

Reference

- [1] H. J. Eichler, P. Gunter and D. W. Pohl, “*Laser-Induced Dynamic Gratings*”, Springer-Verlag, Springer series in optical sciences Vol.50, **1986**.
- [2] D. W. Phillion, D. J. Kvizerga, and A. E. Siegman, “Subnanosecond relaxation time measurements using a transient induced grating method”, *Appl. Phys. Lett.*, **1975**, 27, 85.
- [3] K. A. Nelson, R. J. D. Miller, D. R. Lutz and M. D. Fayer, “Optical generation of tunable ultrasonic waves”, *J. Appl. Phys.*, **1982**, 53, 1144.
- [4] M. D. Fayer, “Picosecond holographic grating generation of ultrasonic waves”, *IEEE J. Quantum Electron.*, **1986**, 22, 1437.
- [5] A. Harata and T. Sawada, “Determination of Some Flame Parameters Using Laser-Induced Ultrasonics.” *Jpn. J. Appl. Phys., Suppl. 27-1*, **1988**, 27, 223.
- [6] S. W. Fu and J. F. Power, “Depth Profiling of Optical Absorption in Thin Films via the Mirage Effect and a New Inverse Scattering Theory. Part II: Experimental Reconstructions on Well-Characterized Materials”, *Appl. Spectrosc.*, **2000**, 54, 127.
- [7] A. Harata, H. Nishimura and T. Sawada, “Laser - induced surface acoustic waves and photothermal surface gratings generated by crossing two pulsed laser beams”, *Appl. Phys. Lett.*, **1990**, 57, 132.
- [8] A. Morandeira, A. Furstenberg, O. Nicolet, S. Pages, B. Lang and E. Vauthey, “Ultrafast Photochemistry”, *Chemia*, **2002**, 56, 690.
- [9] T. Gensch and C. Viappiani, “Time-resolved photothermal methods: accessing time-resolved thermodynamics of photoinduced processes in chemistry and biology” *Photochem. Photobiol. Sci.*, **2003**, 2, 699.
- [10] A. A. Maznev, K. A. Nelson and J. A. Rogers, “Optical heterodyne detection of laser-induced gratings” *Opt. Lett.*, **1998**, 23, 1319.
- [11] G. D. Goodno, G. Dadusc and R. J. D. Miller, “Ultrafast heterodyne-detected transient-grating spectroscopy using diffractive optics” *J. Opt. Soc. Am. B*, **1998**, 15, 1791.
- [12] M. Terajima, “Optical heterodyne detected transient grating for studies of photochemical reactions and solution dynamics” *Chem. Phys. Lett.*, **1999**, 304, 343.
- [13] J. A. Rogers, M. Fuchs, M. J. Banet, J. B. Hansekman, R. Logan and K. A. Nelson, “Optical system for rapid materials characterization with the transient grating technique: Application to nondestructive evaluation of thin films used in microelectronics” *Appl. Phys. Lett.*, **1997**, 71, 225.
- [14] Q. H. Xu, Y. Z. Ma and G. R. Fleming, “Heterodyne detected transient grating spectroscopy in resonant and non-resonant systems using a simplified diffractive optics method” *Chem. Phys. Lett.*, **2001**, 338, 254.
- [15] J. C. Vaughan, T. Feurer and K. A. Nelson, “Degenerate four-wave mixing spectroscopy based on two-dimensional femtosecond pulse shaping” *Opt. Lett.*, **2004**, 29, 2052.
- [16] M. Yamaguchi, K. Katayama and T. Sawada, “Lens-free heterodyne transient grating method for dynamics measurement of photoexcited species in liquid” *Chem, Phys, Lett.*, 2003, 377 , 589.
- [17] Ktayama, M. Yamaguchi and T. Sawada, “Lens-free heterodyne detection for transient

- grating experiments” *Appl. Phys. Lett.*, **2003**, 82, 2775.
- [18] M. Okuda and K Katayama, “Selective detection of real and imaginary parts of refractive index change in solutions induced by photoexcitation using near-field heterodyne transient grating method” *Chem. Phys. Lett.*, **2007**, 443, 158.
- [19] A. Harata and T. Sawada, “Transient reflecting gratings for the investigation of photothermal and photoacoustic phenomena localized near surfaces and interfaces” *Trends Anal. Chem.*, **1995**, 14, 504.
- [20] A. Harata and T. Sawada, “Novel microscopy using stimulated light scattering by laser - induced transient reflecting gratings on metallic surfaces” *Appl. Phys. Lett.*, 1991, 58, 1839.
- [21] D. H. Auston and C. V. Shank, “Picosecond Ellipsometry of Transient Electron-Hole Plasmas in Germanium” *Phys. Rev. Lett.*, **1974**, 32, 1120.
- [22] C. A. Paddock and G. L. Eesley, “Transient thermorefectance from thin metal films” *J. Appl. Phys.*, **1986**, 60, 285.
- [23] O. B. Wright, T. Hyoguchi and K. Kawashima, “Laser Picosecond Acoustics in Thin Films: Effect of Elastic Boundary Conditions on Pulse Generation” *Jpn. J. Appl. Phys.*, **1991**, 30, L131.
- [24] C. Thomsen, H. T. Grahn, H. J. Maris and J. Tauc, “Surface generation and detection of phonons by picosecond light pulses” *Phys. Rev. B*, **1986**, 34, 4129.
- [25] J. E. Rothenberg, “Observation of the transient expansion of heated surfaces by picosecond photothermal deflection spectroscopy” *Opt. Lett.*, **1988**, 13, 713.
- [26] H. Born, E. Wolf, “*Principle of Optics 7th ed.: Electromagnetic Theory of Propagation, Interference and Diffraction of Light.*” Cambridge, **1999**.
- [27] M. Young, “*Optics and Lasers: Including Fibers and Optical Waveguides*”, Springer-Verlag, **1992**.
- [28] J. H. Moore, C. C. Davis and M. A. Coplan, “*Building Scientific Apparatus, 2nd ed.*”, Perseus Books, **1991**.
- [29] W. Demtroder, “*Laser spectroscopy, 3rd ed.: basic concepts and instrumentation*”, Springer-Verlag, **2003**.
- [30] H. F. Talbot, “Facts relating to optical science” *Philos. Mag.*, **1836**, 9, 401.
- [31] L. Rayleigh, “On copying diffraction-gratings, and on some phenomena connected therewith” *Philos. Mag.*, **11**, 196, 1881.
- [32] K. Patorski, “*Progress in Optics*”. Vol. 27, Elsevier, Amsterdam, 1989.
- [33] M. Terazima, *J. Phys. Chem. A*, “Optical Heterodyne Detected Transient Grating for the Separations of Phase and Amplitude Gratings and of Different Chemical Species” **1999**, 103, 7401.
- [34] M. Terazima, N. Hirota, S. E. Braslavsky, A. Mandelis, S. E. Bialkowski, G. J. Diebold, R. J. D. Miller, D. Fournier, R. A. Palmer, A. Tam, “Quantities, terminology, and symbols in photothermal and related spectroscopies” *Pure Appl. Chem.*, **2004**, 76, 1083.
- [35] M. Terazima, “Molecular volume and enthalpy changes associated with irreversible photo-reactions” *J. Photochem. Photobio. C: Photochem. Rev.*, **2002**, 3, 81.
- [36] T. Tsuruta, M. Okuda and K. Katayama, “Detection of active oxygen species dynamics in TiO₂ sol solutions using single-shot near-field heterodyne transient grating method” *Chem. Phys. Lett.*, **2008**, 456, 47.

- [37] M. Okuda, T. Tsuruta and K. Katayama, "Lifetime and diffusion coefficient of active oxygen species generated in TiO₂ sol solutions" *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2009**, 11, 2287.
- [38] Y. Nakazato, M. Okuda and K. Katayama, "Formation dynamics of gold nanoparticles measured by single-shot near-field heterodyne transient grating method" *Chem. Phys. Lett.*, **2008**, 457, 271.
- [39] N. Maeda, T. Eitoku, Y. Ikezoe and K. Katayama, "Nucleation reaction dynamics of Pt nanoparticles observed by the heterodyne transient grating method", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2012**, 14, 200.
- [40] M. Eigen and L. D. Maeyer, "*Technique of Organic Chemistry*", A. Weissberger Interscience, New York, **1963**.
- [41] M. Dourlent and J. F. Hogrel, "Influence of electric dichroism on the temperature-jump relaxation study of proflavine-DNA complexes" *Biochemistry*, **1976**, 15, 430.
- [42] E. D. Rosario and G. G. Hommes, "Temperature-jump study of the interaction of malate dehydrogenase with reduced nicotinamide-adenine dinucleotide and D-malate" *Biochemistry*, **1971**, 10, 716.
- [43] B. C. Bennion, L. K. J. Tong, L. P. Holmes and E. M. Eyring. "Kinetics of sodium lauryl sulfate micelle dissociation by a light-scattering temperature-jump technique" *J. Phys. Chem.*, **1969**, 73, 3288.
- [44] M. Anson, S. R. Martin and P. M. Bayley, "Transient CD measurements at submillisecond time resolution—application to studies of temperature - jump relaxation of equilibria of chiral biomolecules" *Rev. Sci. Instrum.*, **1977**, 48, 953.
- [45] M. Eigen and L. D. Maeyer, "*Investigation of Rates and Mechanisms and Reactions*", 3rd ed., Vol. 6, Part II, G.G. Hammes (ed.), Wiley-Interscience, New York, pp. 66-146, **1974**.
- [46] G. W. Hoffman, "A Nanosecond Temperature - Jump Apparatus" *Rev. Sci. Instrum.*, **1971**, 42, 1643.
- [47] D. Porschke, O. C. Uhlenbeck and F. H. Martin, "Thermodynamics and kinetics of the helix-coil transition of oligomers containing GC base pairs" *Biopolymers*, **1973**, 12, 1313.
- [48] D. H. Turner, G. W. Flynn, S. K. Lundberg, L. D. Faller and N. Sutin, "Dimerization of Proflavin by the Laser Raman Temperature-Jump Method" *Nature*, **1972**, 239, 215.
- [49] D. H. Turner, G. W. Flynn, N. Sutin and J. V. Beitz, "Laser Raman temperature-jump study of the kinetics of the triiodide equilibrium. Relaxation times in the 10⁻⁸ -10⁻⁷ second range" *J. Am. Chem. Soc.*, **1972**, 94, 1554.

Chapter 3

Observation of phase transition dynamics by heterodyne transient grating method

3.1 Introduction

前章までに、屈折率を通して光化学反応ダイナミクスを測定する手法として、過渡回折格子法、ヘテロダイン過渡格子(HD-TG)法の原理について紹介してきた。また、光エネルギーを熱エネルギーに変換し、溶液温度を上昇させるレーザー温度ジャンプ(T-jump)法を組み合わせることで、光化学反応だけでなく、熱により反応が進行する過程について、安価・簡便な光学系を用いて測定することが可能であることを紹介した。続く本章では、レーザー温度ジャンプ法とヘテロダイン過渡格子法を組み合わせ poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAM) 水溶液の相転移ダイナミクスについて測定を行い、光の透過率変化を測定する濁度法、また過去の報告と結果を比較し、高分子-水間や高分子間に働く相互作用変化について考察を行った。

3.2 Experimental section

3.2.1 HD-TG method

ヘテロダイン過渡格子法の装置図を Fig. 3.1 に示す。^[1-3] 励起光にはフラッシュランプ励起 Nd:YAG レーザー(GAIA II, Rayture Systems Inc.) の第2高調波(波長: 532 nm, パルス幅: 6 ns, パルス強度: 10-15 mJ/pulse) を用いた。レーザーパルスの繰り返し周波数は Function generator(DF1906, NF corp.) を用いて 10 mHz(100 秒に 1 パルス光照射) で測定を行った。検出光は He-Ne レーザー(LHRP-0201, Thorlabs, 波長: 532 nm) を用いた。励起光と検出光は高さを変えて平行にシリンドリカルレンズ($f = 150$ mm) に入射し、試料中で集光・交差させた。励起光のビーム径は幅 5 mm で厚みは 200 μm 程度に集光した。透過型回折格子はパイレックス硝子をフッ化水素酸溶液でエッチングし作成されたマイクロ化学技研のカスタムメイドチップを用いた。硝子サイズ 30 x 70 mm 内に上下2段、13 x 5 mm、深さピッチ 2 μm の格子間隔の異なる回折格子を多数作成した。ヘテロダイン過渡格子法で用いた透過型回折格子を Fig. 3.2(a) に示す。本実験では主に 60-90 μm の格子間隔を用いた。回折格子は光軸方向に移動させることで、式 2.34 における位相差 ϕ を制御でき、屈折率の実数部変化と虚数部変化を選択的に観測できる。^[4] 試料セルは石英ガラス製(S10-UV-0.5, GL sciences) で、光路長は 0.5 mm のものを使用し、レーザー照射により励起される体積を少なくすることで、単位体積当たりのエネルギー量を高くした。試料セルはアルミニウムで作成されたハンドメイド温調フォルダー内に設置した(高谷精密工業)。温調フォルダーを Fig. 3.2(b) に示す。フォルダーには光路用の光窓(0.5 x 8 mm) を前後に配置し、試料セル内の温度分布が起こらないようにした。試料温度は温調フォルダーの下部に設置した温度分解能 0.1 K のペルチェ式温度コントローラー(VPC-20, VICS) を用いて制御した。温調フォルダーとペルチェ素子の間には熱

伝導効率の高いグリズ(AS-05, Ainex) を塗布した。各種フィルターを用いて励起光を遮光しピンホールを透過した後の 0 次光をフォトダイオード(DET 110, Thorlabs) を用いて検出した。フォトダイオードの出力は高速オシロスコープ(WAVERUNNER, 6KA, Lecroy) を用いて測定した。各測定における積算回数は 5 回とした。

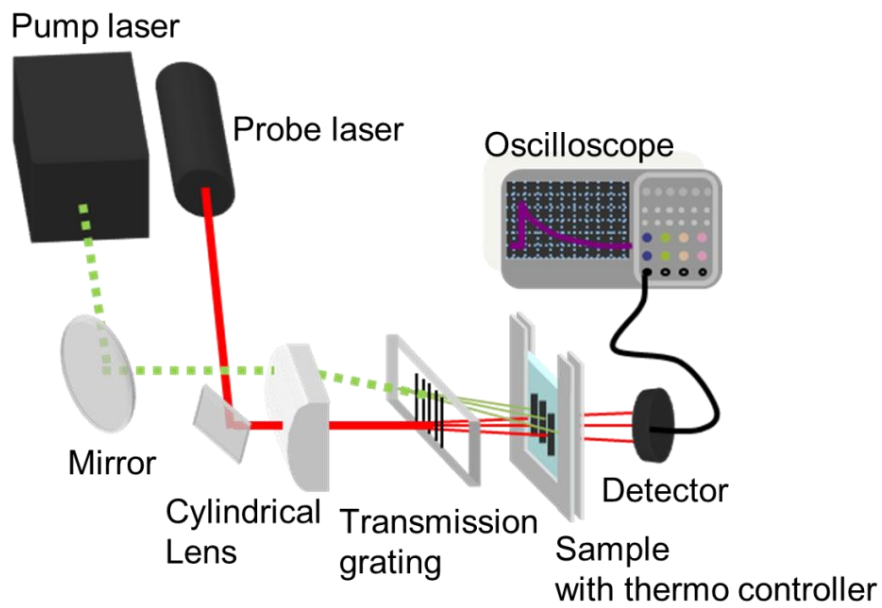


Fig. 3.1 ヘテロダイン過渡格子法の装置図

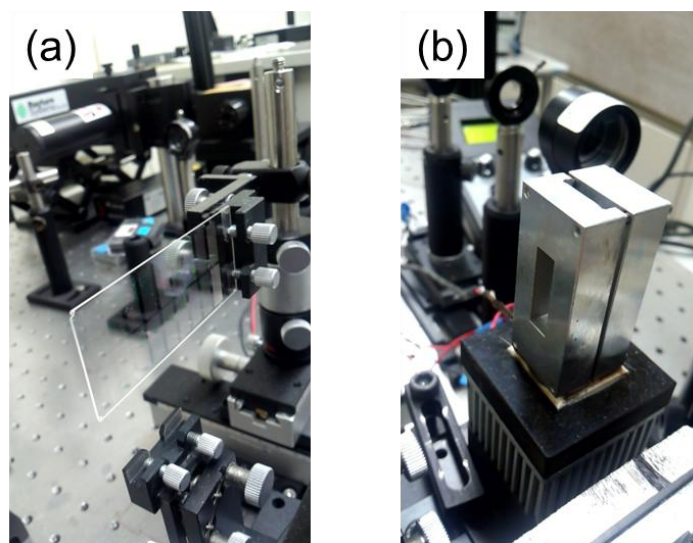


Fig. 3.2 (a) 透過型回折格子 (b) 温調フォルダー

平衡にある系に熱エネルギーを加え新しい平衡点へと緩和する応答を測定する温度ジャンプ法として、試料に光を吸収し熱を発生させるヒーター色素を添加する手法を採用した。^[5] 1.0 K の温度上昇に必要なエネルギーは次の式を用いて表すことができる。

$$E_{\Delta T=1K} = \frac{\rho C_p V}{M_w} \quad (3.1)$$

ここで、 ρ は物質の密度、 C_p は定圧熱容量、 V は加熱体積、 M_w は分子量を示す。また、物質に光を照射して吸収するエネルギーは吸光度 A を用いると次のように表される。

$$E_{Abs} = E_{excited} (1 - 10^{-A}) \quad (3.2)$$

ここで、 $E_{excited}$ は照射する光の強度を示す。

式 3.1, 3.2 より、物質に光を照射したときに上昇する温度は次の式を用いて見積もられる。

$$\Delta T = E_{Abs} / E_{\Delta T=1K} \quad (3.3)$$

この式より、温度ジャンプ幅はレーザー強度と色素濃度、加熱体積に依存していることが分かる。温度ジャンプ幅が大きいと実験は行いやすいが、後述するように、色素添加による影響をなるべく少なくするために、色素濃度は増やさず、加熱体積を減らすためにレンズを用いて励起光を集光照射した。実験的に得られた本測定における最大温度ジャンプ幅はおよそ 1.5 K であった。

3.2.2 Sample preparation

PNIPAM は Sigma-Aldrich より分子量 20000-25000 g/mol のものを購入し、純水に 10.0 wt% で溶解させた後、24 時間静置した。ヒーター分子として和光化学より購入した crystal violet(CV) を用いた。CV は水に容易に溶解し、光に対し

て安定性が高く、吸収極大波長は 590 nm 附近で、光励起された後、およそ数 ps で高い内部変換効率により熱に変換される。^[6,7] CV は純水に 1.0 mM になるように調整した。測定に用いた試料は PNIPAM 水溶液、CV 水溶液を混合し、PNIPAM 濃度 3.0 wt%、CV 濃度 0.3 mM となるように調整した。CV を添加した PNIPAM 水溶液の粘度は 2.93 mPa であった(SV-10, AND). また参照応答用に濃度 0.3 mM の CV 水溶液を調整した。ヒーター分子の影響を測定するため、CV に変わるヒーター分子として Sigma-Aldrich より購入した rhodamine B(RhB) を同じく PNIPAM 水溶液中で 0.3 mM になるように調整した。CV と RhB の構造式を Fig. 3.3 に示す。

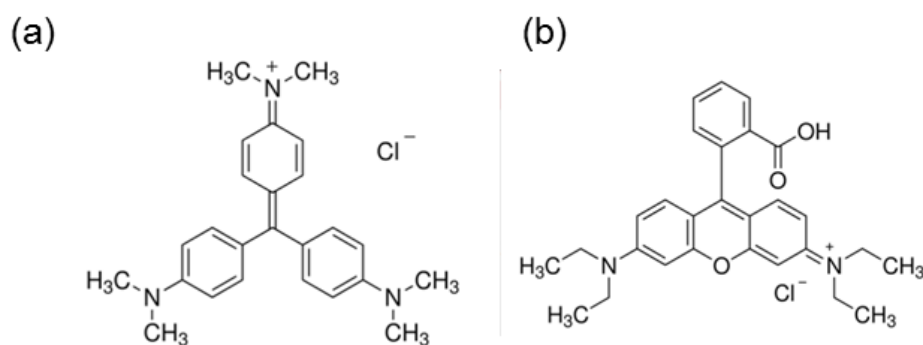


Fig. 3.3 ヒーター分子の構造式 (a)クリスタルバイオレット (b)ローダミン B

3.3 Investigate of sample properties

PNIPAM 水溶液の相転移ダイナミクスの測定を行う前に、調整した PNIPAM 水溶液の性質についての測定を行った。レーザー温度ジャンプ法の項でも触れているように、ヒーター色素を試料に添加し、吸収波長に合った励起光を用いる色素添加型のレーザー温度ジャンプ法は簡便な手法であるが、試料に対する添加色素の影響を考慮しなければならない。そこで、試料の基底状態での溶存状態を可視光吸収スペクトルによる測定から、試料の相転移温度に関する影響を示差走査熱量測定 (differential scanning calorimetry: DSC) から、また後述するが、相転移ダイナミクス時における影響を CV に代えて RhB を PNIPAM 水溶液に添加し測定を行い比較することで考察を行った。

3.3.1 Absorption spectrum

PNIPAM 水溶液に色素を添加したときの影響を調べる為に、吸収スペクトル測定を行った。色素の吸収スペクトルから、溶液中の分散や凝集などの溶存状態に関する情報を得ることが出来る。分光光度計として UV/VIS spectrophotometer(V-530, JASCO) を用いた。試料セルは石英ガラス製(S10-UV-0.5, GL sciences), 光路長は 0.5 mm のものを使用した。測定波長領域は 400-800 nm でスキャン速度は 200 nm/min とし、積算は 2 回行った。試料として、CV(0.3 mM) を添加した PNIPAM 水溶液(3.0 wt%) と CV 水溶液(0.3 mM) を用いた。ブランクの測定には純水を用いた。

各試料の可視光吸収スペクトルを測定した結果を Fig. 3.4 に示す。青線は CV 水溶液、赤線は CV を添加した PNIPAM 水溶液の吸収スペクトルを表す。

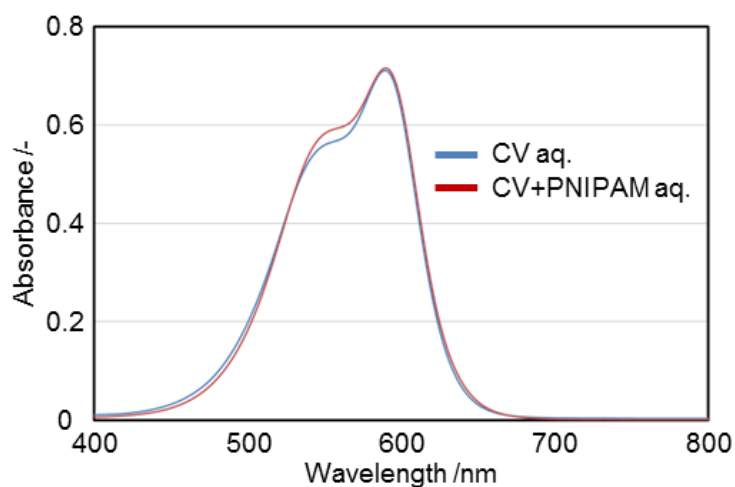


Fig. 3.4 PNIPAM の有無による CV 水溶液の可視光吸収スペクトルの変化
(青線: CV0.3 mM, 赤線: PNIPAM 3.0 wt%, CV 0.3 mM, 光路長 0.5 mm)

最大吸収波長は 592 nm とどちらの試料も一致した。PNIPAM を含む試料で 560 nm 付近のショルダーピークに変化が観測された。CV はトリフェニルメタン系の構造を持ち、中心の炭素原子を軸にフェニル基が回転運動を行う。高粘度溶液中では回転運動が阻害されるため、このショルダーピークの吸収量の差は試料の粘度に依存するものと考えられる。^[8] PNIPAM を含む溶液では CV 水溶液よりも粘性が高く、回転運動に関する吸収成分が減少していると考えられる。ショルダーピークの吸収量の差以外は各試料で同じ吸収波形を示した。このことから、CV は PNIPAM 溶液内で会合や凝集などを行わず、均一に分散していると考えられる。

3.3.2 Differential scanning calorimetry

PNIPAM 水溶液に色素を添加したときの相転移温度への影響を調べる為に、示差走査熱量測定(differential scanning calorimetry: DSC, DSC-60, SHIMAZU)

を行った。試料として、PNIPAM 水溶液(3.0 wt%) と CV を添加した PNIPAM 水溶液(3.0 wt%, CV: 0.3 mM) を用いた。試料はアルミ製シールセル内に封入し、測定温度領域は 25-50 °C でスキャン速度は 2 °C/min とした。ブランクには空のシールセルを用いた。

各試料の示差走査熱量測定の結果を Fig. 3.5 に示す。青線は PNIPAM 水溶液、赤線は CV を添加した PNIPAM 水溶液の DSC 応答を示す。縦軸は DSC 強度(mW) で熱量変化を表す。27 °C 付近の負のピークはシールセル自体の熱量変化によるものである。最大 DSC 強度は PNIPAM 水溶液で 32.4 °C、CV を添加した PNIPAM 水溶液では 32.6 °C であった。CV を添加している試料で相転移温度がやや高温側へシフトした。これは親水性の CV の一部が室温の水溶液中で PNIPAM に吸着したため、PNIPAM が親水的になり、系の相転移温度が高温側へとシフトしたためと考えられる。(see Fig. 1.2)

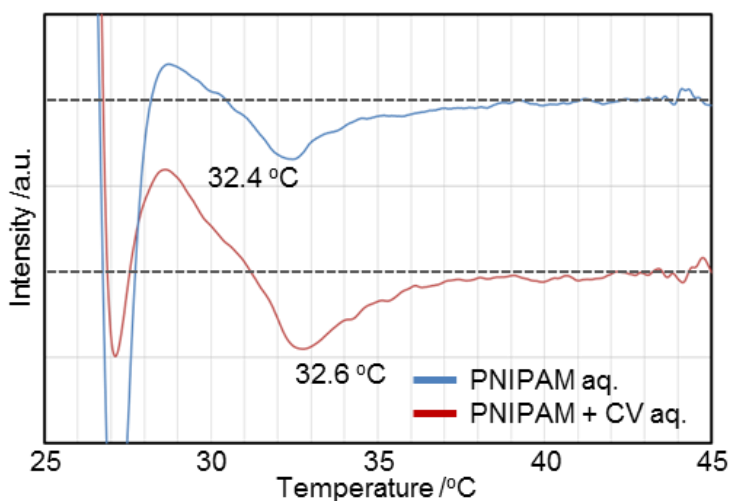


Fig. 3.5 PNIPAM 水溶液と CV を含む PNIPAM 水溶液の DSC 応答

(青線: PNIPAM 3.0 wt%, 赤線: PNIPAM 3.0 wt%, CV 0.3 mM)

また、目視による CV を含む PNIPAM 水溶液の相転移温度は 33.2 °C と見積もられた。熱量測定と僅かな差が生じたのは、目視では濁度が増加する過程を観察しているため、微視的変化と巨視的変化観察に差が出たと考えられる。ヘテロダイン過渡格子法を用いて行った測定はすべて、目視での温度を基準として、試料の初期温度を決定した。

3.4 Results and discussion

可視光吸収スペクトルと示差走査熱量測定の結果より、PNIPAM 水溶液に色素を添加したときの影響を調べた結果、色素は溶液中でほぼ均一に分散し、色素の一部は PNIPAM 鎖に吸着していることが分かった。この結果から、PNIPAM 水溶液の相転移ダイナミクスに CV が与える影響は僅かであると考え、レーザー温度ジャンプ法のヒーター分子として CV を採用した。考察においては色素添加による影響は無視せず行った。

本項では、レーザー温度ジャンプ法とヘテロダイン過渡格子法を用いて PNIPAM 水溶液の相転移ダイナミクスを測定した結果を示す。試料温度を相転移温度近傍に調整することで PNIPAM 水溶液の相転移を誘起し、その応答を観測した。相転移が誘起されない室温試料との比較、PNIPAM を含まない CV 水溶液との比較、濁度測定を行うことで、PNIPAM の相転移ダイナミクス由来の信号を解析し同定を行った。

3.4.1 Whole phase transition dynamics

レーザー温度ジャンプ法とヘテロダイン過渡格子法を用いて PNIPAM 水溶液の相転移ダイナミクスの測定を行った。相転移が誘起される試料の温度条件と相転移が誘起されない室温試料で測定を行い、その比較を行った。ヘテロダイン過渡格子法を用いて CV を含む PNIPAM 水溶液(3.0 wt %, CV: 0.3 mM)を測定した結果を Fig. 3.6 に示す。このとき、温調セルを用いて試料の初期温度を、励起光の照射後も相転移温度に到達しない 25.0 °C (青線) と、相転移温度に到達する 32.7 °C (赤線) に制御し測定を行った。温度ジャンプ幅はレーザー強度を調整し 1.0 K とした。格子間隔 80 μm の回折格子を用いた。

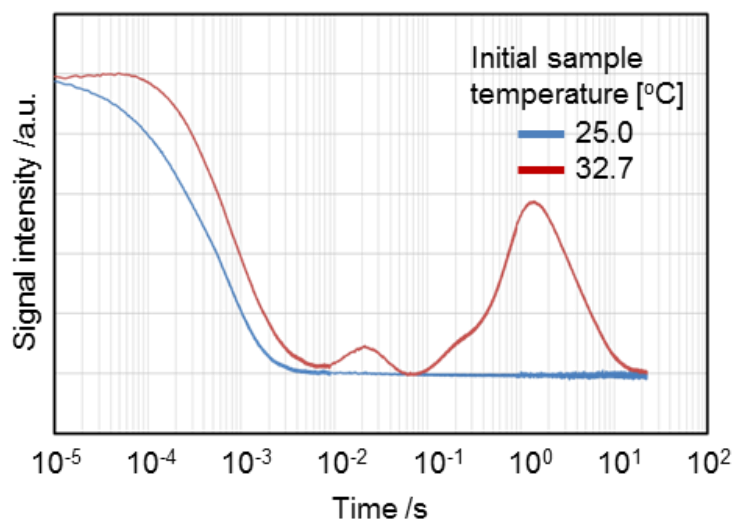


Fig. 3.6 PNIPAM 水溶液の HD-TG 応答
(温度ジャンプ幅: 1.0 K, 格子間隔: 80 μm)

応答の縦軸は 10^{-5} 秒時の信号強度で規格化した信号強度、横軸は対数時間を表す。試料温度 25.0 $^{\circ}\text{C}$ での応答は 10^{-4} - 10^{-3} 秒領域にかけて単一指数関数で表すことが出来る減衰する成分のみ観測された。一方、試料温度 32.7 $^{\circ}\text{C}$ の条件では、同じく 10^{-4} - 10^{-3} 秒領域の減衰の他、 10^{-2} - 10^{-1} 秒領域と、 10^{-1} - 10^2 秒領域に二つの山なりの応答、符号の異なる二つの指数関数の足し合わせで表すことが出来るような応答がそれぞれ観測された。またヒーター分子として RhB を添加した PNIPAM 水溶液についても同様の応答が観測された。このため、得られた応答は添加色素に依らない応答であると考えられる。

次に、参照応答として、CV 水溶液(0.3 mM) を同様の条件で測定した結果を Fig. 3.7 に示す。温調セルで試料温度を 25.0, 35.0 $^{\circ}\text{C}$ に制御した。CV 水溶液の応答は室温での PNIPAM 水溶液の応答と同様に、 10^{-4} - 10^{-3} 秒領域にかけて単一指数関数で表すことが出来る減衰する成分のみ観測され、試料温度の依存性は観測されなかった。CV は光に対して安定で、光励起の後、励起状態の CV

は光や他の分子と反応することなく速やかに吸収したエネルギーを熱に変換することが知られている。そのため、詳細は後述するが、ヘテロダイン過渡格子法による 10^{-5} - 10^{-3} 秒領域の応答は熱に由来する応答のみが観測されることが考えられる。一方、試料温度 $32.7\text{ }^{\circ}\text{C}$ の PNIPAM 水溶液では熱由来の応答だけでなく、PNIPAM の相転移に関する情報が含まれていると考えられる。

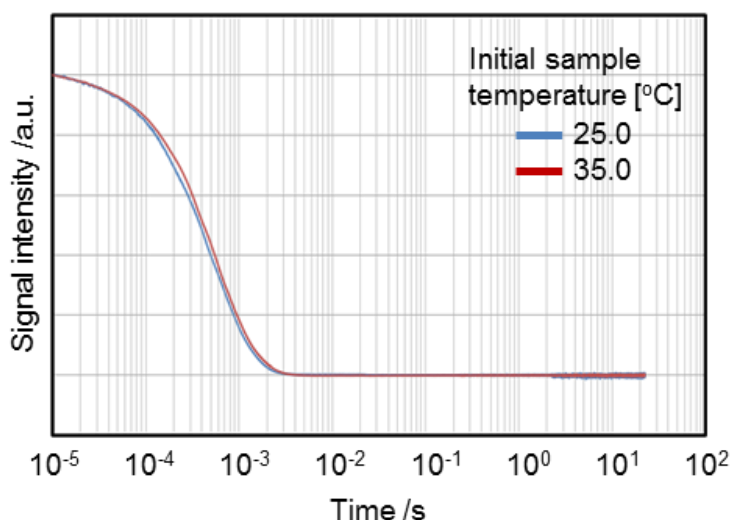


Fig. 3.7 CV 水溶液の HD-TG 応答

(温度ジャンプ幅: 1.0 K, 格子間隔: $80\text{ }\mu\text{m}$)

3.4.2 Comparing with turbidity measurement

ヘテロダイン過渡格子法を用いて観測された PNIPAM 水溶液の相転移応答を同定するために、ヘテロダイン過渡格子法と同様の光学系で、回折格子を取り外すことで、測定が可能な相転移時の光の透過率変化を観測する濁度法による測定を行った。Fig. 3.8 に濁度法の光学系を示す。^[9] 過渡格子法の光学系同様、励起光である Nd:YAG レーザーを用いて試料を瞬間的に加熱し、相転移を誘起、相転移時による濁度変化を検出光である He-Ne レーザーの透過光強度をモニタリングすることで、相転移における濁度変化を測定する。回折格子

を用いない分、励起光の照射強度が高くなるため、1.0 K の温度ジャンプが起こるように励起光の強度を調節した。

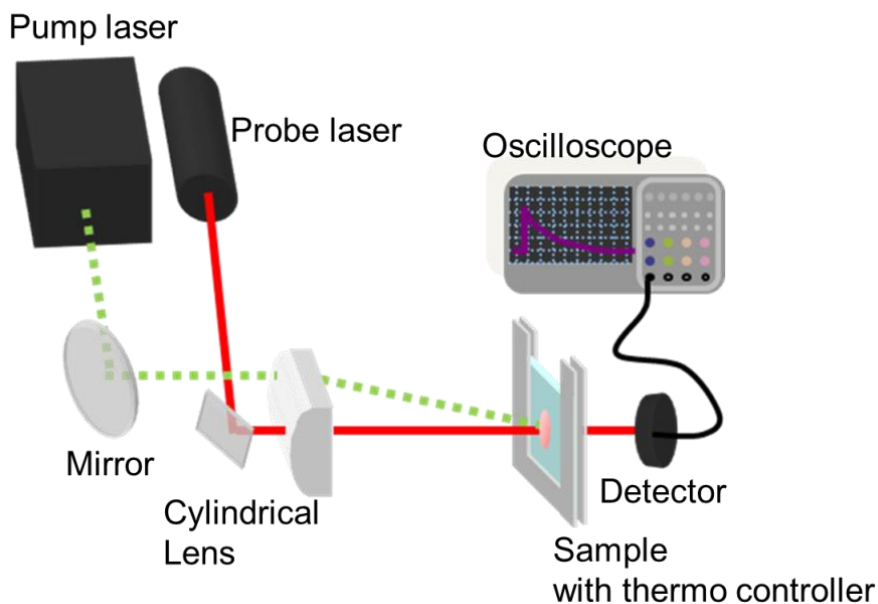


Fig. 3.8 濁度法の装置図

相転移が誘起される試料の初期温度 $32.7\text{ }^{\circ}\text{C}$ の条件で、ヘテロダイン過渡格子法と濁度法の応答を比較した応答を Fig. 3.9 に示す。

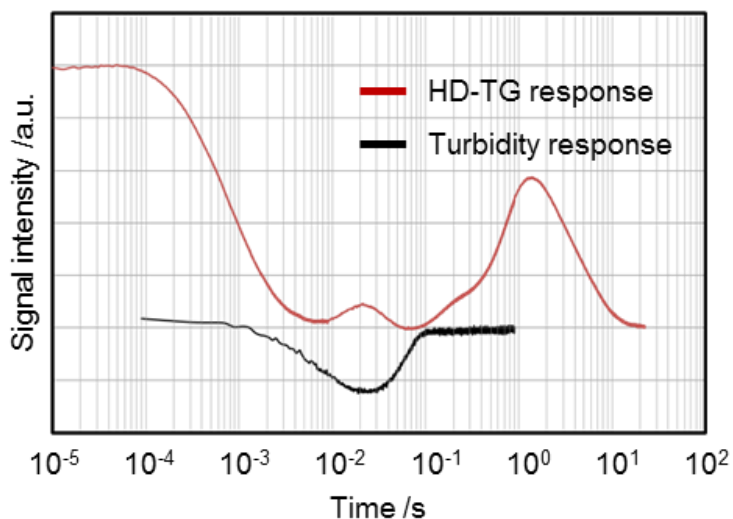


Fig. 3.9 HD-TG 法と濁度法による応答の比較 (PNIPAM 水溶液: 3.0 wt %, CV: 0.3 mM, 試料初期温度: $32.7\text{ }^{\circ}\text{C}$, 温度ジャンプ幅: 1.0 K)

透過光の強度を検出する濁度法では、数 10 ms にかけて光の強度が減少し、その後、元の強度へと 100 ms 程度かけて緩和していく応答が観測された。この濁度法で得られる応答は透明な溶液が相転移により白濁による光散乱し、その後、熱緩和とともに元の透明な水溶液に戻っていく応答である。ヘテロダイン過渡格子法の応答と比較すると、 10^{-2} - 10^{-1} 秒領域で観測される山なりの応答は濁度法で得られる応答と観測される強度変化の方向は異なるものの、観測される時間領域に良い一致を示した。ヘテロダイン過渡格子法で観測される信号は屈折率変化を反映しているため、透過光強度変化と必ずとも一致しないが、濁度が増加し、緩和する過程は屈折率変化の符号として反対の値を取ることから、 10^{-2} - 10^{-1} 秒領域に観測される成分は相転移した PNIPAM が疎水性相互作用により凝集することで光の透過率を減少させる応答と、凝集体が緩和して透明な溶液へと戻っていく応答に起因するものと考えられる。またこのとき、ヘテロダイン過渡格子法で得られる応答は式 2.38 にあるように単一指数関数の足し合わせで表すことが出来る。 10^{-2} - 10^{-1} 秒領域で濁度変化の応答に注目すると、信号は次の式を用いて表すことが出来る。

$$I(t) = A_{\text{turbid}} \exp(-t / \tau_{\text{turbid}}) + A_{\text{relax}} \exp(-t / \tau_{\text{relax}}) \quad (3.4)$$

ここで、 A_{turbid} , A_{relax} は定数、 τ_{turbid} , τ_{relax} はそれぞれ濁度時定数、緩和時定数を示す。式 3.4 を用いて応答をフィッティングし各時定数を算出したところ、濁度が増加する成分 τ_{turbid} は 11 ± 1 ms、緩和する成分 τ_{relax} は 44 ± 5 ms となった。照射領域から熱が 2 次元に拡散する時間は次の式を用いて表すことが出来る。^[10]

$$L = \sqrt{4Dt} \quad (3.5)$$

ここで、 L は熱拡散長、 D は熱拡散係数、 t は拡散時間を表す。

このとき、熱拡散長はレーザー光の照射領域に等しく 200 μm であり、水の熱拡散係数 ($D=0.146$ mm^2/s) を用いると、この領域から熱が緩和する拡散時間は 68

ms と見積もられる。この値は濁度が緩和していく時間と同様の時間領域であった。つまり、濁度が増加した後、熱が緩和するとともに、濁度の緩和が起きていると考えられる。

3.4.3 Observation of phase transition dynamics before aggregation

ヘテロダイン過渡格子法と濁度法により得られた応答の比較から、 10^{-2} - 10^{-1} 秒領域の応答が光の透過率変化に関する応答であることが明らかになった。この結果から、濁度が増加する 10^{-2} 秒以前の応答、また濁度が緩和した 10^{-1} 秒以降の応答、つまり溶液が透明な条件においてもヘテロダイン過渡格子法は相転移に関する新たな成分を観測した。これらの成分について詳しく解析を行っていく。

まず濁度の変化が起こる以前の応答、 10^{-7} - 10^{-5} 秒領域の PNIPAM 水溶液のヘテロダイン過渡格子法による応答を Fig. 3.10 に示す。温調セルを用いて試料の初期温度を、励起光の照射後も相転移温度に到達しない $25.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ (青線) と、相転移温度に到達する $32.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (赤線) に制御し測定を行った。温度ジャンプ幅は 1.0 K とし、格子間隔は $80\text{ }\mu\text{m}$ を用いた。応答の縦軸は振幅の最大強度で規格化した信号強度、横軸は対数時間を表す。 10^{-7} 秒付近で信号が立ち上がり、振動しながら緩和していく応答が観測された。この振動しながら緩和していく応答は過渡回折格子法に特有な応答で、励起状態の失活に伴い、縞状に発生した熱により溶媒の体積が膨張・収縮し、圧力変化が検出光を振動させる音響回折格子信号(acoustic grating) として観測されているものである。