

研究課題別評価書

1. 研究課題名

電子増強振動分光法の開発と応用

2. 氏名

由井 宏治

3. 研究のねらい

振動分光法は分子骨格や置換基レベルでの構造・環境情報を鋭敏に反映するため、化学の分野ではもちろんのこと、材料や生物の分野でも必須な計測・分析ツールとなりつつある。近年とりわけ細胞中の生体関連分子や、水中における材料表面における化学種や水そのものの構造・状態分析が求められているが、水系試料の計測に適したラマン散乱は、赤外吸収に比べて信号が 10^{-10} 倍程度と大変微弱であり、一般にはさほど普及していないのが現状である。しかし今後の生命科学や環境・材料化学において、類似の化学種を識別できる振動分光法の重要性は一層増すことは違いなく、ラマン散乱の信号増強法の開発が強く望まれている。しかしその増強法としては、1974年に報告された、特殊処理した金属表面で観測される表面増強ラマン効果(SERS)があるのみで、しかもその適用は金属表面の吸着分子に限られていた。本研究では、電子のもつ局所電場を利用した新たなラマン増強法の開発と応用をねらいとする。特に研究期間中は、大変重要でありながらSERSでも信号増強効果の得られない不均一環境の水分子をその測定対象の中心に据えた。また将来における水中の生体関連物質や材料表面の化学種分析への応用も目指し、信号の取得に時間が要求される既存の偏光変調赤外振動分光手法への適用も検討した。また電子による信号増強機構そのものについてもより知見を深め、総合的な電子増強振動分光法の応用にむけて、その基盤を築くことを本研究のねらいとした。

4. 研究成果

1. 電子増強機構の検討

水中の固体ナノ粒子をパルスレーザーで誘電破壊させてプラズマ化した際、周囲の水分子のラマン散乱が特異的に強く観測され、この増強に水中に過渡的に多量発生した電子が寄与していることを突き止めたのが本研究の発端である[*Phys. Rev. Lett.* **85**, 3512 (2000)]。しかし、電子増強機構と表面増強ラマン散乱(SERS)機構との類似点や相違点はこれまで不明であった。そこで、電子増強効果のより詳細な描像を得るため、信号増強時の過渡的なラマンスペクトルの変化を時間分解分光により追跡した。その結果プラズマ再結合輻射が観測される前に本増強効果が観測されていることから、電子がLUMOに入り安定なアニオンを形成した後の現象ではなく、電子がまだ高い運動エネルギーをもって液体中を拡散しながら電子親和力の高い置換基と相互作用した結果、置換基そのものの分子分極率が飛躍的に増加し、ラマン散乱や赤外吸収の過渡的な増強に至っていることが判明した。すなわち、表面増強ラマン効果の化学機構(金属から分子への共

鳴的電子移動)のように、分子全体がアニオン化されているわけでもなく、また物理機構のように励起光電場が局所的に増大しているわけでもない。本増強効果は、電子が電子親和性の高い置換基そのものの固有の分子分極率を高めている点で、従来の表面増強ラマン効果の物理機構や化学機構とは一線を画する第三の増強機構と考えられる。また液体中の水分子の代表構造である5員環、6員環水素結合ネットワークモデルを用いて、中性のものと電子を付加させたもので電子の広がりを考慮して理論計算し、ラマン散乱活性ならびに赤外吸収活性を比較した(図1、表1)。実験の波数シフトを良く再現した6員環のモデルでは、電子付加により赤外・ラマンともその活性が $10^2 \sim 10^5$ 倍近く、直接OH基に結合すると、最大で 10^7 倍程度まで増強すると見積もられた。

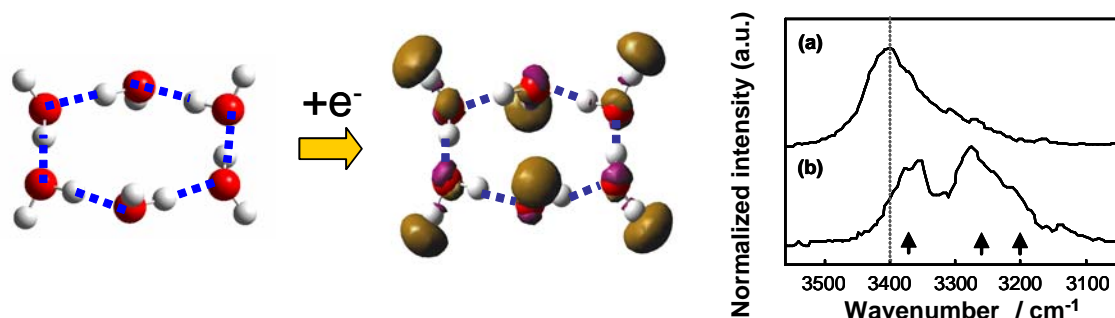


図1 電子付加に伴う水分子6員環構造と電子付加による実測のスペクトルの特徴的变化。電子は水素結合していないフリーなOH基を好んで局在化する傾向があり、その場合、通常の水のスペクトル(右図(a))には見られない特徴的な3つのピークが観測されることが分かる(右図(b)中矢印)。

表1 電子付加に伴うラマンならびに赤外活性の増強度比較

| Wavenumber (cm ⁻¹) and assignment | Raman E.F.* | IR E.F.* |
|---|-------------------|-------------------|
| 3800** OH stretching (free) | 2.4×10^2 | 4.9×10^3 |
| 3400*** OH stretching (Hydrogen-bonded) | 2.0×10^2 | 1.2×10^3 |
| 1600 Intermolecular Scissoring | 2.7×10^3 | 5.6×10^2 |
| 600 Libration | 2.4×10^3 | 7.7×10^2 |
| 200 Intramolecular stretching | 3.9×10^4 | 9.4×10^2 |
| 60 Intramolecular scissoring | 2.3×10^4 | 2.7×10^3 |

*E. F. : Enhancement factor compared to the band intensity of neutral species.

** Average of the wavenumber region from 3640 cm⁻¹ to 4000 cm⁻¹

*** Average of the wavenumber region from 3000 cm⁻¹ to 3620 cm⁻¹

2. 電子増強ラマン分光法の不均一界面への応用

金属/水界面は電気化学、触媒化学、環境化学などで大変重要な反応場であり、吸着化学種の置換基レベルにおける構造・環境変化を追跡できる振動分光法の適用が広く望まれている。しかし表面増強ラマン効果では金属表面における吸着水分子のラマン散乱は増強されず、その原因は未だ解明されていない。本研究ではレーザー誘起プラズマ生成法で金属と水の界面に電子を発生、電子増強ラマン効果を起こし、さらに誘導ラマン効果と組み合わせることで、水中における金属表面固有の水分子の電子増強ラマンスペクトルを取得することに成功した(図2)。さらにレーザーアブレーションで金属ナノ粒子を作るような環境を金属表面で創りつつ電子増強ラマン信号を取得したところ、これまで報告例のない400cm⁻¹おきの信号を観測した。真空中での電子エネルギー損失分光法(EELS)測定で金属表面に吸着している水クラスターと金属表面との直接的な水素結合が上記振動数を与えることが報告されているが、EELSは水中には適用できなかった。本

手法を用いることで、表面吸着水のクラスターと金属表面との結合に基づく振動モードを水中で初めて捉えることができたと考えられ、金属ナノ粒子生成極初期過程を考察する上でも興味深い。

3. 電子増強ラマン分光法の超臨界水中分析への応用

超臨界水は、高い輸送性能と高い媒質密度を利用した化学反応場として注目を集めている。特に近年では、超臨界中でプラズマを発生させ、高エネルギー状態を利用した新しい材料合成反応や環境浄化技術が注目を集めている。このような反応場の計測として、従来のNMR、XRD、IRなど手法が試みられているが、極限的な熱力学的環境、プラズマ反応そのものの時間・空間的制限から、このような反応場のその場計測が不可能であった。そこで我々は電子増強ラマン分光法の適用を着想し、超臨界水中に生成したプラズマ(特に電子)と相互作用する水分子の振動スペクトルを取得することに初めて成功した(図3)。その結果、超臨界状態になると水分子の密度が減少し、水分子同士の水素結合が切れはじめたことで、電子と水分子の相互作用が相対的により顕著になる現象が初めて実験的に見出された。さらに測定された波数シフトと理論計算の比較から、測定した圧力・温度条件では、電子が平均として水分子3個と相互作用していると見積もられた。

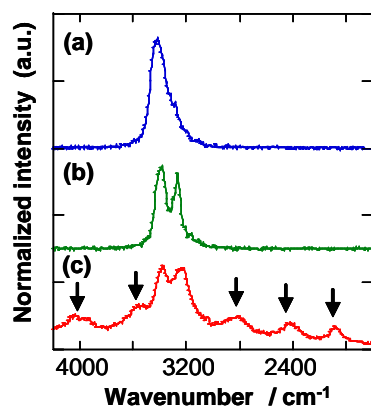


図2 不均一界面への電子増強ラマン散乱の適用。(a)バルク水中、(b)銀表面、(c)銀表面レーザーアブレーション条件。(c)における 400cm^{-1} おきのピークが特徴的(図中矢印)。

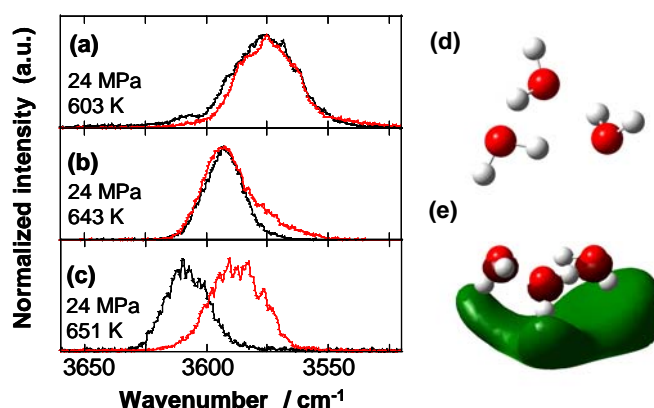


図3 超臨界水中での電子-水クラスターの増強ラマンスペクトル。(a)高温高圧水、(b)亜臨界水、(c)超臨界水。黒が通常の水のスペクトル、赤が電子と相互作用している水由来の増強スペクトル。超臨界で差が顕著に。(d)、(e)は(c)の黒線、赤線の波数を再現するモデル図。(e)の緑色の雲が電子の分布を表す。

4. 電子増強赤外分光法の不均一界面分析への適用

赤外吸収法はもともと高感度であるため、信号増強が分析化学的に意味をもつのは試料が特定の場所に局在して、かつ極微量であったり、測定原理から信号取得に大変な時間を要する場合等である。まず前者の例として大気中の金属表面に自然吸着している水分子を捉えることを目的とした。新しい電子供給法として高周波電源を用いたプラズマジェットの利用を着想し、大気中で金、銀、銅表面にプラズマジェットを照射し、自然吸着した水分子の増強振動スペクトルを取得した。大気中の三次元等方的な水蒸気成分をキャンセルするため、偏光変調反射光学配置を採用した(図4)。プラズマ照射前では有意なピークは観測されなかったのに対して、プラズマ照射数十分間で、いずれの金属からも吸着水に由来する有意なピークが観測された。スペクトルはバルク水や水蒸気とは異なり、銅を除いて低波数側に氷様のピークとして観測された。真空中での表面吸着水の計測例はあるものの、大気中では初めての測定となった。銅は金や銀とは異なりプラ

ズマ照射により表面が変色していたため、酸化銅表面への吸着水を捉えたものと考察した。

5. 電子増強赤外分光法の振動円二色性分光法(VCD)への適用

VCDはキラル分子の液体中における絶対配置だけでなく、立体配座も計測できる大変強力な可能性を秘めた分光手法である。しかし右・左回り円偏光の赤外吸収の差が通常の赤外吸収の 10^{-5} オーダーであるため、信号取得に数時間かかることは普通であり、生体反応などで重要な分子の動的過程の追跡には飛躍的な信号増強手法の適用が望まれる。そこで電子増強分光法のVCDへの適用を着想した。しかし研究を始めて、VCDは剛直な骨格をもつごく一部の分子でしか理論と実測が一致しないことが判明した。理論計算と一致しない場合、スペクトルから立体配座を決定できず、増強信号が得られても目的の情報まで還元できない。そこでまずVCD自体の適用範囲を拡張するため、自由回転するOH基を有する(-)-メントールを試料として、実験・理論両面から検討し、OH基の立体配座の違いがスペクトルパターンに劇的な影響を与えることを見出した。さらにOH基の回転に伴う各種の立体配座をボルツマン分布で重みづけし、その線形結合を取ることで実測と理論の一致度合いを大幅に改善することに成功し(図5)、従来のVCDの適用範囲を、構造が柔軟な分子へ拡張する道を拓いた。現在は新しい電子供給法としてインドールなど電子を放出し易い分子の添加と、ランプによる紫外光励起を組み合わせた方法を検討している。

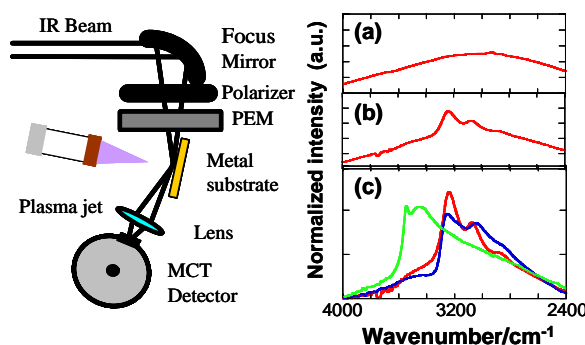


図4 偏光変調反射吸収赤外分光光学配置とプラズマジェットによる電子供給実験。(左図)装置の配置図。光弾性変調器(PEM)で高速に直交する偏光成分を生み出し差分を取ることで、水蒸気成分を除去。(右図)金表面のプラズマ照射(a)前、(b)20分後のスペクトル。(c)金属による違い。金(赤)、銀(青)、銅(緑)。

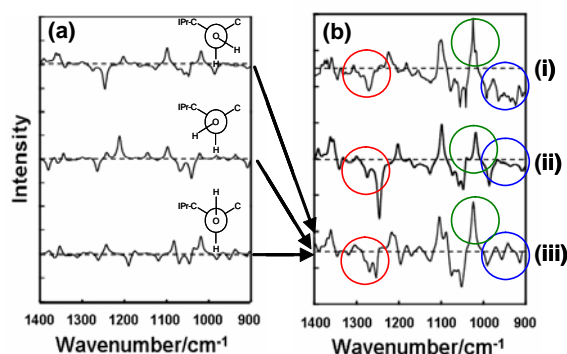


図5 (a) OH基の立体配座を変化させた場合のVCDスペクトルの変化と、(b) Boltzmann分布に基づく重みづけによる実測スペクトルと理論計算結果の一致度合いの改善。(i)実測。(ii)単一成分による解析。(iii)重みづけ解析。例えば赤、緑、青丸をつけたところなどを参照にされたい。

5. 自己評価

本研究では、総合的な電子増強振動分光法の開発として、以下の3つの目的を掲げた。

- (1)これまで見出された電子増強ラマン効果を実際の系に応用し、その有用性を検証する。
- (2)理論的に予測された電子増強赤外吸収効果を検証し、従来の赤外分光法に適用する。
- (3)電子増強機構そのものをさらに詳細に検討し、特に表面増強ラマン散乱との違いを明確にする。

(1)については、表面増強ラマン散乱ではその効果の発見以来なぜか信号が取得できないことで良く知られていた水中における金属表面の吸着水の計測に成功した。また本手法を応用することでXRD、NMR、IRなどでは特に局所環境の測定が難しい超臨界水の過渡種の計測に初めて成功し、本手法の新規性や有用性を界面計測や、極限的環境下にある実サンプルで示すことがで

き、今後さらに応用例を増やす必要はあるものの、当初の目的はおおむね達成できたものと考えている。

(2)については、真空中では既に様々な優れた計測手法が多数存在するため、妨害の多い大気中での計測にこだわり、偏光変調技術なども導入して、従来、真空中でしか選択的な測定が難しかった金属表面の吸着水の計測に大気中で初めて成功した。また生体系に多いキラル分子の水中における立体配座測定に有望な VCD への適用も試みた。後者は、まだ発展途上中の VCD そのものの計測・解析手法の適用範囲を広げる、という思わぬ成果を得ることができた。装置開発からスタートしたため、時間を要したが、赤外分光法への適用への道も拓けた点で、おおむね目標は達成されたものと考えている。

(3)については、増強したラマン信号そのものの高時間分解分光を実施し、プラズマ再結合輻射の前に増強効果が起こっていることを明らかにした。まだ高い運動エネルギーを持っている電子が直接分極した置換基そのものに相互作用し、置換基そのものの固有な分極率を改変している点で、表面増強ラマン効果の物理機構とも化学機構とも異なる増強機構であることを突き止めることができた。これは目標(1)で表面増強ラマン効果では得ることの出来なかった金属表面の吸着水の増強計測に成功していることから、裏付けられているといえる。逆に、電子増強法の効果が期待できるのが、もともと分極の大きな置換基であることが判明し、その適用範囲に制限がかかることも判明したが、表面増強ラマン効果との差異が明らかになってきた点で、おおむね目標を達成したものと考えている。

以上(1)－(3)について、今後の応用・発展へ向けての基盤固めの段階ではあり、さらなる検討が必要ではあるが、所定の成果が得られたものと思われる。

技術的には、特に一般に普及している赤外分光法への応用のため、高価なレーザーを用いない、新しい電子供給法として、表面・界面計測のための高周波電源を用いたプラズマジェットの利用、水中計測のためのランプ光源を用いた光化学的電子供給法の検討を平行して進めた。前者は成功し、後者は現在検討の段階である。これらの技術的課題については、測定対象に応じた物理的・化学的な最適な電子供給条件を今後も検討していく必要があると考えている。また細胞中などへの適用を考え、高空間分解計測を実現するための非線形レーザー分光法との組み合わせによる顕微鏡への適用、化学修飾による生体高分子の目的の部位のみの温和な電子発生方法等は、可能であれば期間中に同時に達成したい技術的項目として掲げていたが、これらは最終年度により研究をスタートさせた段階で、今後引き続き行う研究課題となった。

6. 研究総括の見解

極微量のサンプルの構造解析や反応追跡を飛躍的に向上させる電子増強振動分光法の研究である。新たに電子を分子に付加することで分子の分極率を変化させ、赤外吸収やラマン散乱能を飛躍的に高めるという独自の発想に取り組んだ。主たる成果は次の2点である。

①理論計算により水中での電子付加により赤外・ラマン活性が著しく増強される結果を導出し、このことから表面増強ラマン効果とは異なる第3の増強メカニズムが存在する可能性を証明した。

②本法を、金属表面と吸着水クラスターの不均一界面の振動分光、超臨界水中に生成したプ

ラズマと相互作用する水分子の振動分光の測定に適用し、従来技術で測定できなかった現象や増強スペクトルの測定に成功した。

また、レーザーの代わりに安価なプラズマジェットを用いる技術開発、円二色性分光法へ本法を応用した立体配座の計測技術など原理検討から応用まで精力的に研究展開した。

これらの研究成果は 3 篇の原著論文、4 件の学会招待講演にまとめられている。また平成18年9月に社団法人日本分析化学会にて奨励賞を受賞している。

水中の電子増強散乱という独自に見出した現象を基盤として独創的な成果を上げた。得られた成果は本法の多様な応用分野を示すとともに、電子増強振動分光法の理論を傍証するものとして高く評価できる。一方、未解明の部分も多いので着実に疑問点を整理しつつ現象解析を進めていただきたい。この解明のために理論グループとのコラボレーションも重要と考えられる。本法は、局所環境における生体高分子などで分子の局所的な環境や構造情報を敏感に反映するため、反応追跡や構造決定の重要なツールとなると思われる。波及効果は極めて大きく今後の更なる発展を期待したい。

7. 今後の展開

電子増強ラマン散乱法の利点は、水中で、金属を用いずにラマン信号の増強を図れる点であり、この特徴を活かした応用展開をさらに発展させていきたい。具体的な応用先として、細胞中における局所化学環境の評価が挙げられる。これまでに表面増強ラマン効果を適用するため、金属ナノ粒子を細胞中に外部から導入する試みがあるが、本方法では、金属ナノ粒子の代わりに電子を用い、しかもその電子を測定系の内部から外部の光刺激などにより供給し、目的の信号を取得し終えたらまた電子を系に戻すといった方法を検討したい。この目的の達成のため、以下の2点を今後の技術的目標として展開していきたい。

- (1) 顕微分光観測への適用。特に各種非線形ラマン過程と組み合わせた3次元高空間分解化
- (2) 温和な電子供給法の開拓。特に、計測目的部位への電子供給プローブの修飾。

電子増強赤外分光法は、特に VCD への適用を中心的に進めたい。これは、生体分子に多いキラル分子の水中での立体配座を、結晶化したり、化学修飾したりせずを得ることの期待できるほぼ唯一の分光法であるためである。従来の VCD では感度的に時間分解計測が難しいが、蛋白質の2次構造のダイナミックな変化、生体中のキラル分子の立体配座がないうる高度な分子認識過程のその場追跡などへの適用を可能にするべく、VCD の飛躍的な感度向上を目指して研究を進めていきたい。

8. 主な論文等

(A) さきがけの個人研究者が主導で得られた成果

- (1) 論文(原著論文)発表

論文(国際)

- ・ Hiroharu Yui, "Electron Enhanced Raman Scattering and Its Applications in Solution Chemistry", *Analytical Sciences* (Vol.23, page 769-774), 2007

- ・ Hiroharu Yui, Takahito Nakajima, Kimihiko Hirao, Tsuguo Sawada, "Electron-Enhanced Vibrational Spectroscopy: A Theoretical Approach", Analytical Sciences (Vol.24, page 111-114), 2008
- ・ Hiroharu Yui, Hisaya Kato, Yuu Someya, "Characteristic wavenumber shifts of the stimulated Raman scattering from interfacial water molecules induced by laser-induced plasma generation at air-water and water-silver interfaces", (Vol.24, page 111-114), Journal of Raman Spectroscopy, 2008

(2)特許出願 なし

(3)受賞

平成18年9月 社団法人日本分析化学会 奨励賞受賞

(4)学会発表

口頭発表(国内)

- ・ 由井 宏治, "電子増強ラマン分光法を用いた水中における電子—水分子相互作用の研究", 第67回分析化学討論会, 2006
- ・ 由井 宏治, 筈居 高明, 澤田 正美, 寺嶋 和夫, "電子増強ラマン分光法を用いた超臨界水—プラズマ相互作用の解析", 第68回分析化学討論会, 2007
- ・ 由井 宏治, "電子増強ラマン分光法を用いた気液・液固界面分光分析", 日本分析化学会第56年会, 2007

(5)招待講演

招待講演(国際)

- ・ Hiroharu Yui, "Electron-Enhanced Raman Scattering and its Application to Solution Chemistry: (invited talk)", International Conference on Raman Spectroscopy (The 20th ICORS), 2006
- ・ Hiroharu Yui, "Electron-Enhanced Raman Scattering and its Application to Solution Chemistry: (invited lecture)", The first International Symposium on Surface-enhanced Raman Scattering (SERS-2006), 2006

招待講演(国内)

- ・ 由井 宏治, "電子増強振動分光法の開発と溶液化学への応用(学会シンポジウム招待講演)", 日本分析化学会第55年会, 2006
- ・ 由井 宏治, "電子増強ラマン分光法の開発と溶液化学への応用(奨励賞受賞講演)", 日本分析化学会第55年会, 2006

(B) その他の主な成果

なし