

海水成分及び微量不純物の効率的捕捉・除去(回収)及び超高感度状態分析Ⅲ

二又 政之

埼玉大学大学院理工学研究科

概要 海水の成分である Na^+ , K^+ , Cs^+ , Mg^{2+} などのカチオン及び Cl^- , Br^- , SO_4^{2-} 等のアニオンとともに Li^+ , 希少金属イオン, 重金属イオンを捕捉・分離し, 回収(除去)することは, 海水の有効利用, 金属資源の活用や汚染物質の除去とともに, 自然環境保護や地球環境の維持などの観点からも重要である。これらの金属イオンやアニオンの回収は, これまで主にイオン交換樹脂による分離と ICP-MS 分析法等を利用して行われてきた。しかし, 微量化学種の回収と検出のためには, 濃縮等の前処理が必要であり, かつ特に有害物質の存在状態の分析には, こうした従来法では有意の情報が得られない。我々は, これまでに AgNP や AuNP と, 種々の金属カチオン及びハロゲン化物などのアニオン等溶液中の分析対象化学種との静電的な相互作用を制御し, 対象化学種を高効率で捕捉し, それらのイオンの水和状態や, ナノ粒子との相互作用を詳しく分析する flocculation-SERS 法を開発してきた。本研究は, この研究成果に基づいて, 海水中に含まれる種々のイオンや有機分子を, 表面をイオン性化学種で修飾した AuNP, AgNP との静電的な相互作用や, 配位結合等の化学的相互作用を制御・利用して, 高効率に捕捉し, 原料水から凝集体として, あるいは分散溶液から遠心分離法により除去する。分離された「対象化学種が吸着した金属ナノ粒子(MNP)」に対して, 高感度ラマン分光を用いて, 化学種の存在状態を分析する。金属ナノ粒子は, 溶液の pH 制御により, 対象化学種を脱離させることで, 再利用する手法の確立を目指して検討を行った。その結果, 海水中の Na^+ , Cl^- のほか, Mg^{2+} , Ca^{2+} , SO_4^{2-} はそのまま前処理なしに捕捉・除去できることが実証された。それら以外の Cd^{2+} , Co^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} を含む遷移金属カチオンも, 1 価金属イオンは 10 mM, 多価金属イオンは 0.1-0.3 mM の濃度まで濃縮することで捕捉除去が可能であることが明らかになった。さらに, 分析対象イオンの存在状態を溶媒和する水分子のラマンスペクトルに基づいて解析できることを見出した。生体高分子や有害有機分子のモデル化合物として, DNA・RNA 塩基を取り上げ, クエン酸還元法とソリューションプラズマ法など異なる方法で調製した AuNP を用いて, 10^{-7} - 10^{-8} M の水溶液からの捕捉・検出が可能であることを見出した。幅広い試料系に適用するために重要な AuNP, AgNP 表面電位と孤立分散性の制御法の指針を得た。

外部発表論文

- (1) K. Tabei, K. Akai, M. Futamata, *submitted*.
- (2) R. Kuwana, S. Handa, M. Futamata, *Chemical Physics Letters*, 2018, 693, 79-83.
- (3) M. Seki, T. Yoshimoto, D-Y. Wu, M. Futamata, *submitted*.
- (4) C. Iida, K. Akai, J. Murakami, M. Futamata, *Chemical Physics Letters*, 2016, 661, 234-239.
- (5) K. Akai, M. Futamata, *Chemical Physics Letters*, 2017, 675, 63-68.
- (6) M. Futamata, K. Akai, C. Iida, and N. Akiba, *Analytical Sciences*, 2017, 33, 417-426.

1. 研究目的

海水の成分である Na^+ , K^+ , Cs^+ , Mg^{2+} などのカチオン及び Cl^- , Br^- , SO_4^{2-} 等のアニオンとともに Li^+ , 希少金属イオ

ン, 重金属イオンを捕捉・分離し, 回収(除去)することは, 海水の有効利用, 金属資源の活用や汚染物質の除去とともに, 自然環境保護や地球環境の維持などの観点から

も重要である。これらの金属イオンやアニオンの回収は、これまで主にイオン交換樹脂による分離とICP-MS分析法等を利用して行われてきた。しかし、微量化学種の回収と検出のためには、濃縮等の前処理が必要であり、かつ特に有害物質の存在状態—例えば水銀イオンが、フリーの Hg^{2+} か、あるいはエチル基等が結合した有機水銀かの区別—の分析には、こうした従来法では有意の情報が得られない。我々は、これまでにAgNPやAuNPと、種々の金属カチオン及びハロゲン化物などのアニオン等溶液中の分析対象化学種との静電的な相互作用を制御し、対象化学種を高効率で捕捉し、それらのイオンの水和状態や、ナノ粒子との相互作用を詳しく分析するfloculation-SERS法を開発してきた。本研究は、この研究成果に基づいて、海水中に含まれる種々のイオンや有機分子を、表面をイオン性化学種で修飾したAuNP, AgNPとの静電的な相互作用や、配位結合等の化学的相互作用を制御・利用して、高効率に捕捉し、原料水から凝集体として、あるいは分散溶液から遠心分離法により除去する。分離された「対象化学種が吸着した金属ナノ粒子(MNP)」に対して、高感度ラマン分光を用いて、化学種の存在状態を分析する。金属ナノ粒子は、溶液のpH制御により、対象化学種を脱離させることで、再利用する。本研究では、これらの金属ナノ粒子を用いたイオン・有機分子の分離・除去・回収の手法の確立を目的とする。

2. 研究方法

海水に含まれる種々の金属イオンやハロゲン化物イオン、硫酸イオン、過塩素酸イオン、炭酸イオン等のアニオンの効率的な捕捉、状態分析、回収のために、申請者が開発した以下のfloculation-SERS法を用いる。

Floculation-SERS-1: AgNP 試料(a)+試料(b)

- ①あらかじめ溶液側末端に、ハロゲン化物イオンやカルボキシ基を有するチオール単分子膜でAuNP及びAgNPを表面修飾する。これにより、AuNP, AgNP表面に負電荷を与える。同様の方法で、溶液側末端にアミノ基を有するチオール単分子膜を用いて、AuNP, AgNP表面に正電荷を与える。
- ②原料水溶液中の分析対象である正・負のイオンと、これらの表面修飾したAuNP, AgNPとの静電的な相互作用を利用して、イオンをナノ粒子表面に捕捉する。これま

での研究から、このときのAuNP, AgNP表面へのイオンの捕捉量は、それらナノ粒子表面の総電荷により決まり、半径20-30 nmの金属ナノ粒子1個あたり、約10,000個のイオンを捕捉できる。ナノ粒子濃度を約 10^{13} 個/L(～5 mol/Kg-AgNP)とすることで、効率的にイオンの捕捉を実現する。

- ③この捕捉により、AuNP, AgNPは近接する(凝析せず、集合した粒子が浮遊する状態)ので、AuNP, AgNP間の局在表面プラズモンを利用して、単一分子感度でイオン種自身や水和状態をラマンスペクトル測定し、化学種の識別とともに、酸化状態、配位結合、水和状態などを詳しく分析できる。
- ④捕捉したイオン種は、別のイオン種を試料溶液に添加し、AuNP, AgNPを凝析させ、遠心分離することで、上澄み液中に回収する。遠心分離後、AuNP, AgNPを純水に再分散し、孤立状態を回復する。①,②に戻しAuNP, AgNPを再利用する。
- ⑤化学還元法で形成したAuNP, AgNP表面(修飾なし)に、 Hg^{2+} や有機水銀イオンなど重金属イオンが直接静電的な相互作用により吸着することを利用して、捕捉・除去、状態分析を試みる。これは、AuNP, AgNP表面のクエン酸残留物の負電荷と重金属イオンのクーロン引力、及びAu-Hgのアマルガム形成を利用するものである。自然水中の有害重金属イオンの捕捉・除去を行う。必要に応じて、自然水中の分析対象である(主)金属イオンの濃縮、及び異種(副)金属イオン添加によるco-floculation法を用いる。
- ⑥生体物質・有機分子のAuNPによる捕捉・除去・検出: 生体・有機分子と親和性が高く、非侵襲性であるAuNPについて、従来のクエン酸還元法における表面残留物の問題を、H29年度の研究成果に基づき、ソリューションプラズマ法で合成したAuNPにより解決し、as-prepared及び塩化物置換したAuNPを用いて、自然水中の種々の有機化合物の捕捉と定量状態分析を行う。

3. 実験方法

3.1 銀ナノ粒子(silver nanoparticle, AgNP, 試料(a))の調製

AgNPはクエン酸還元法により合成した^[2]。AgNP粒子

半径はシリコン基板上に固定した AgNP 試料の SEM 測定から、15-20 nm であった。調製された AgNP 表面にはクエン酸及びその部分的な分解物である α -カーボンが吸着しており、結果的に AgNP は負電荷を有しているために、水溶液中に分散し、数カ月にわたり沈殿することなく、安定に保持できる^[1]。AgNP の粒子濃度について、合成に使用した AgNO₃ がすべて反応して半径 15 nm の AgNP が生成したと仮定する方法と、AgNP の extinction 強度から計算する方法^[3]を用いて、試料溶液中の AgNP 濃度を見積もった。得られた結果は、それぞれ 1.9×10^{15} 個/L と 3.3×10^{14} 個/L であり、よく対応した結果が得られた。前者がやや多めに出たのは反応収率=100%としたからであり、この値は AgNP 粒子密度の上限を与える。そこで、ここでは、後者の extinction spectra から見積もった値 3.3×10^{14} 個/L を、あとのチオール表面被覆率や、金属イオン及びアニオンの吸着・捕捉量の見積りに用いた。このようにクエン酸還元法で形成した AgNP は、表面にクエン酸を吸着させている (as-prepared AgNP, -AuNP)。

As-prepared AgNP, AuNP 孤立分散液に NaCl 等の金属ハロゲン化物を加えて(最終濃度 1-5 mM)、クエン酸の置換を試みた。後で示すように、ゼータ電位測定やラマンスペクトル測定から、AgNP については効率的にクエン酸が塩化物置換されるが、AuNP は生成時に原料(HAuCl₄)に含まれる塩化物が、形成時から、AuNP 表面を部分的に被覆している(AuNP のクエン酸還元法による形成は、原料が異なること:AgNP では AgNO₃ とクエン酸三ナトリウム、AuNP では、HAuCl₄ とクエン酸三ナトリウムであること以外は、同じ沸騰水中での還元反応である点で、よく似ているため AuNP の形成法に関する記述の詳細は省略する。加えて、本研究では主として AgNP を用いる)。

H30 年度は、H29 年度に引き続き上記のクエン酸還元法による AgNP, AuNP に加えて、産総研松田直樹 首席主任研究員の協力を得て、ソリューションプラズマ法により形成した AuNP を用いて、下記に示す有機分子捕捉の検討を行った。ソリューションプラズマ法は、5%過酸化水素水溶液中で 0.5 mm の間隔で近接させた金線に高電圧(例えば、2 kV, 20 kHz, I<5 A)をかけたとき、溶液中に AuNP (直径 10-20 nm, 2×10^{-9} M)を合成する方法である^[15]。近年、SP-AuNP 法は、Au 表面残留物の抑制や清浄化の可能性のあることから注目されている。

さらに H29 年度までの検討により、AgNP, AuNP 表面の残留クエン酸が立体障害及び表面負電荷のために、これらのナノ粒子表面への有機物吸着—特に DNA 塩基のように弱い配位結合性相互作用により吸着する化学種—を妨害する可能性があることが判明したため、H30 年度は MNP 分散液の遠心分離と上澄み液除去後、底部の濃厚 MNP 分散液の純水への再分散を繰り返す方法を用いて、MNP 残留クエン酸の被覆率と表面電荷の低減を検討した。

3. 2 化学還元法で調製した銀ナノ粒子へのチオールコート(AgNP 試料(b)):

3. 2. 1 *p*-メルカプト安息香酸(*p*-mercaptobenzoic acid, PMBA) 自己組織化単分子膜 (self-assembled monolayer, SAM)

PMBA-SAM 膜を AgNP 表面に形成するために、PMBA 水溶液を塩基性(pH~7 > pKa=5.8)とし、カルボキシル基をプロトン解離させることで溶解度を上げ、 10^{-3} M の比較的高濃度の PMBA 水溶液を調製した。

(i) 中性 pH で吸着後のプロトン付加:AgNP 分散液に、pH=7.0 の 2×10^{-4} M PMBA 水溶液を添加し、1 時間静置した。そのあとで、H₂SO₄ を添加して溶液を酸性(pH=2-3)に調整し、吸着 PMBA へのプロトン付加を行った。

(ii) 酸性 pH での吸着:AgNP 分散液と、pH=7.0 の 2×10^{-4} M PMBA 水溶液それぞれに H₂SO₄ を添加して溶液を酸性(pH=2-3)に調整し、1 時間静置した後、AgNP 分散液と PMBA 水溶液を混合し、AgNP 表面に PMBA-SAM 膜を形成した。

3. 2. 2 *p*-アミノチオフェノール (*p*-aminothiophenol, PATP)-SAM 膜

PMBA と同様に、PATP-SAM 膜を AgNP, AuNP 表面に形成した。PATP は、アミノ基へのプロトン付加した-NH₃⁺カチオン及び対イオンの電気二重層間の静電反発を利用して分散安定化するために、pH<pKa~6.9 の酸性条件で MNP 表面に吸着させた。

3. 3 調製した AgNP による溶液中の対イオンの捕捉・検出

3. 3. 1 AgNP 試料(a)による金属イオンの捕捉・検出

裸の AgNP 表面は、クエン酸残留物に覆われている。クエン酸残留物の負電荷と溶液中の金属イオンの静電的相

相互作用を利用して、金属イオンを捕捉する。ここでは、分析能力を明らかにするために、アルカリ金属、アルカリ土類金属、遷移金属など静電パラメータ ($\zeta = \frac{z^2}{r}$, z : 電荷, r :

イオン半径)の異なる種々の金属イオンを用いた。濃度の異なる種々の金属イオンの捕捉性を、extinction spectra 測定により、flocculation 形成に伴う LSP 共鳴スペクトル変化に基づいて解析した。

3. 3. 2 AgNP 試料(b)による溶液中のアニオン・カチオン及び有機分子の捕捉・検出^[4]

酸性で AgNP 表面に PATP の SAM 膜を形成した試料溶液 (PATP のアミノ基は、プロトン付加し-NH₃⁺として存在)に、アニオンとして H₂SO₄, HClO₄, 又は NaOH を添加し、extinction スペクトルを測定した。近接状態が形成された AgNP 溶液試料の SERS スペクトル測定を行い、存在状態の分析を行った。

これらの AgNP 分散水溶液試料について、以下の3つの方法で、吸着金属イオン、アニオンの定量分析、表面電荷量から1個の AgNP 当たりの吸着イオン総数の評価を行った。

(i) 差吸収分光による捕捉金属イオンの定量分析^[1]

特に遷移金属イオンでは、水溶液中で可視領域に吸収ピークを持つ。例えば、Cu²⁺イオンは、740 nm 付近に d 軌道準位間遷移に基づく吸収ピークを持つ。ほとんどの遷移金属イオンは、中性～弱塩基性 pH で水酸化物の沈殿を生じる。また、強塩基性では再び溶解するものの [Cu(OH)₄]²⁻などとして負電荷を有するため、負電荷を帯びた AgNP で捕捉することはできない。ここでは、弱酸性条件で正電荷を有する水和金属カチオンを、クエン酸残留物により負電荷を有する AgNP で捕捉する。捕捉前後の上澄み液の吸収スペクトル測定の差を用いて、AgNP への吸着量を見積もった。

(ii) ICP (高周波誘導結合プラズマ, Inductively-coupled plasma, ICP) 分析

アルゴンガス雰囲気下で 1,000°C以上の高温で原子化された金属イオンの発光スペクトル(励起電子状態から基底状態への発光スペクトル)を利用して定量分析する。またはイオン化に ICP を用い、そのあと質量分析により定量分析する。ICP 分析は定量分析性には優れているが、溶解性・濃度調製などの前処理や、既知濃度標準溶液によ

る検量線の測定が必要である、装置自体が高価で利用性が限られているなどの利用困難さがある。そこで、差吸収分光法による測定結果を ICP 分析による測定結果と比較することで、差吸収分光法の有効性を確かめた。

(iii) ゼータ電位測定

Flocculation-SERS 法で測定された結果を定量的に解析するために、ゼータ電位測定により AgNP 表面の電位を測定した。ゼータ電位は、近似的に分散溶液中の AgNP 表面のポテンシャル ϕ を与える。このポテンシャルは、AgNP 表面付近のイオン及び対イオンの空間分布を与える Poisson-Boltzmann 方程式を通して、AgNP 表面電荷密度 ρ を与える。 ρ から AgNP 表面のクエン酸イオンの吸着量、ハロゲン化物イオン吸着量、PMBA 吸着量を見積もることができる。さらに、As-prepared AgNP, 塩化物置換 AgNP, PMBA-SAM 膜を形成した AgNP などが金属イオンを捕捉する前後や pH を変えた時のゼータ電位(表面電位)の変化から、金属イオンの捕捉量について情報を得る。もしゼータ電位の絶対値が低下するなら、表面電荷が中和されるように、AgNP 表面付近の対イオン濃度が増加することを示す。

(iv) Flocculation-SERS 分光

Flocculation-SERS 法を用いて AgNP に捕捉された金属イオンの検出と状態分析を行った。このとき、AgNP 表面化学種の影響を検討するために、①クエン酸還元法で形成した AgNP (as-prepared AgNP), ②as-prepared AgNP をハロゲン化物置換したもの、③as-prepared AgNP を PMBA-SAM 膜で置換したものをを用いた。

3. 3. 2 AuNP による水溶液中の有機分子の分析

クエン酸還元法により形成した AuNP 及び SP 法により形成した AuNP を用いて、DNA 塩基及び RNA 塩基の検出、吸着状態を flocculation-SERS 法で分析した。このとき、ゼータ電位測定、pH や溶液組成依存したラマンスペクトルを測定し、種々の有機分子の吸着状態を分析した。さらに、クエン酸還元法や SP 法で形成した as-prepared 状態での AuNP と AgNP の表面電位比較、pH 依存性等から、AuNP 表面におけるクエン酸や酸化物イオンの性質を調べた。

4. 得られた結果と考察

最初に、本研究の基本技術である「カルボキシ基を有

するチオール分子等で修飾した金属ナノ粒子を、溶液中に存在する分析対象である化学種との相互作用を用いて、近接(凝集)させ、粒子間ナノギャップに存在する目的化学種を1分子感度で状態分析する手法」についてまとめる。我々は、

(1)AgNP 試料(a)について、「カチオン性色素及び中性色素によるAuNP及びAgNPの近接状態形成と単一分子感度ラマン分光」を行い、高効率かつ再現性よく金属ナノ粒子の近接状態を形成し、ナノギャップに捕捉した化学種の1分子感度ラマン分光法を実現することを目的として研究を進めてきた。まず、分析対象であるカチオン性色素と塩化物置換により、負電荷を与えたAuNP、AgNP表面との静電的相互作用を利用して、AuNP、AgNPを近接安定化することに成功した。同様に、中性化した色素分子のアミノ基と中性の金原子との化学的相互作用(アミノ基の窒素の孤立電子対の金表面への配位結合形成)を利用して、AuNPを近接安定化することに成功した。近接状態形成は、AuNPの局在プラズモン共鳴吸収が、孤立粒子の525 nmから600-700 nmにシフトすることで確かめられた。このとき、カチオン性及び中性化した色素分子は、必然的に金粒子間のナノギャップに吸着しており、He-Neレーザ光により1分子ラマン感度(実測ラマン増強度 $=10^8$ - 10^9 , FDTD法による理論計算値 4×10^8)を実証した。また、カチオン色素と中性化した色素では吸着配向が異なり、それぞれ粒子間軸に平行及び傾斜配向することがラマンスペクトルの解析により得られた。

(2)AgNP 試料(b)について、「金属イオンとPMBAコートしたAgNPの静電的相互作用によるナノ粒子の近接状態形成」を行った。この手法の汎用性を確かめるために、色素以外の分子を用いて金属ナノ粒子の近接状態形成を試みた。そのために、金や銀表面と-S-M共有結合し、自己組織的に単分子膜形成するチオール(-SH)とカルボン酸基(-COOH)をフェニル基の両端に持つ*p*-メルカプト安息香酸(PMBA)を用いた。

ここで得られた結果としては、

①中性pH溶液からPMBA単分子膜形成したAgNPは、水分散液中で孤立状態を維持している。これは、異なるAgNP表面に結合したPMBAの中性条件で

部分的に解離したカルボキシレート基(-COO⁻)が、お互いに静電的に反発するためである。

②この孤立PMBAコートAgNPに、NaCl、NaOH等の塩やアルカリを添加すると(10 mM)、PMBAアニオン間にNa⁺カチオンが入る形で、AgNPが近接した。このとき、PMBAの明確なラマンスペクトルが出現した。吸着PMBAのラマンスペクトルから、NaCl添加した時は部分的にプロトン付加体が混じり、NaOH添加した時は完全にプロトン解離したPMBAのみが観測された。

③一方で、H₂SO₄溶液(1 mM)を添加し、酸性条件(pH \sim 3)にしても吸着PMBAへのプロトン付加は起きなかった。PMBA単分子膜では、一旦吸着したPMBAへのプロトン付加は、近接するPMBA分子の立体障害のために起きにくいと考えられる。実際に、PMBA被覆率を1/10単分子層以下にすると、1 mM H₂SO₄添加で、近接状態形成が見られた。

④金属イオンをNa⁺からCs⁺、Mg²⁺、Ca²⁺、Cu²⁺と変えたとき、同様にAgNPの近接状態が形成された。特に2価の金属イオン添加では、静電パラメータに基づく予想よりも強い静電相互作用が働き、0.2 mMのM²⁺濃度でも近接状態が生じ、1 mM以上の濃度では極めて迅速に凝析が見られた。これらの金属イオンとは異なり、H⁺やLi⁺では近接状態形成が起きないことから、カチオンの水和状態や、有効電荷・有効半径等が、PMBA-SAM-AgNPへの静電的吸着や近接状態形成に関係している^[4,6]。実際にこの手法を用いて、Pb²⁺、Fe²⁺、Cu²⁺、Ni²⁺などの重金属イオン等が、表面修飾剤であるカルボン酸により効率的に捕捉され、AgNPが近接安定化し、巨大なラマン散乱を与えることを見出した(1個のAgNPあたり最大10⁴-10⁵個の金属イオン。表1^[5,6])。

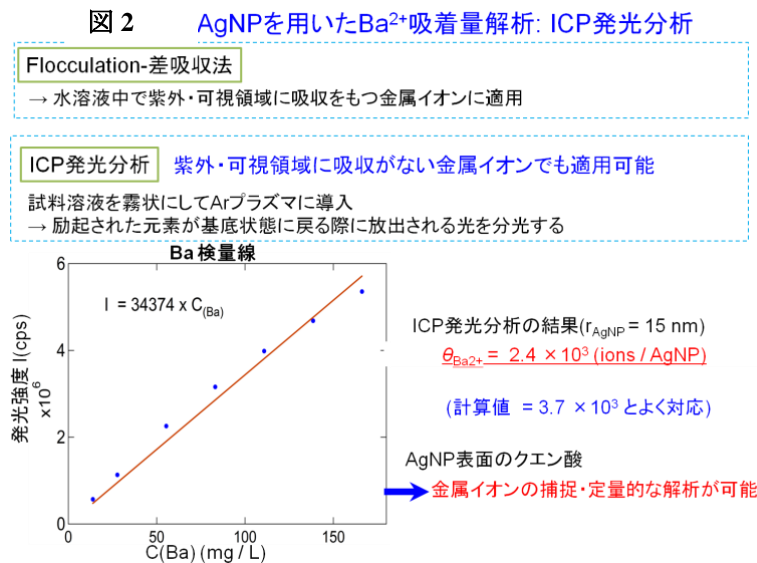
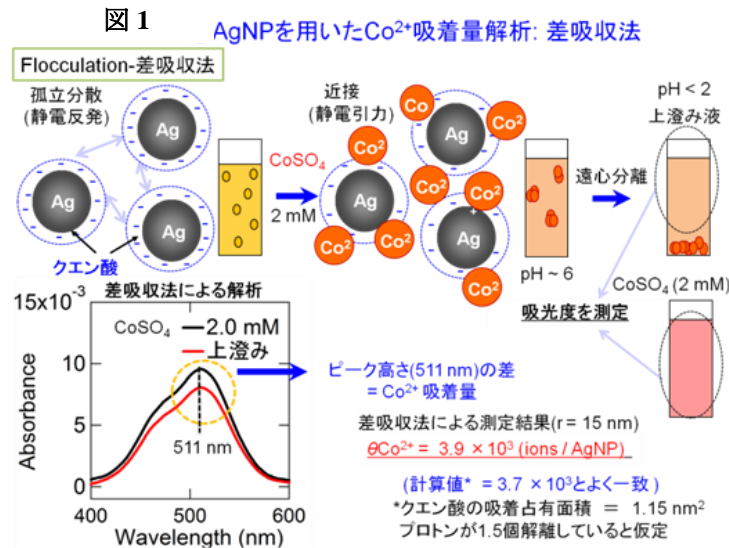
(3)AgNP 試料(b)について、「アミノ基を有するチオール単分子膜で修飾したAgNP、AuNPを用いる手法」を用いて、酸性条件で硫酸アニオン(SO₄²⁻)や過塩素酸アニオン(ClO₄⁻)も、同様に捕捉し、状態分析することができた^[4,5]。これらの異なるアニオンが同様に捕捉できたことは、このfloculation-SERS法が、静電的相互作用を利用するために化学種依存性を持たないことを実証する

ものである。さらに、従来問題であった PATP の吸着状態について、今回新しい知見が得られた。これまでに、PATP のレーザ光照射による不安定性が知られており、Ag 表面に吸着した PATP のラマンスペクトル変化がアゾダイマー生成によるのか、電荷移動相互作用によるのかという議論が続いていた。本研究により、これまで報告されていたスペクトル変化とともに、精密な pH 制御により、真の PATP 中性分子によると考えられる新しい吸着状態を見出した。この発見は、PATP の吸着状態に関するこれまでの議論の解決につながる。すなわち、本手法が溶液中のアニオン捕捉・除去に利用できるだけでなく、基礎科学上も新規知見を与えることが実証された。さらに、AgNP による海水中のアニオン捕捉に関し

て、海水中の塩化物イオン(Cl⁻)濃度は、1.9 質量%(約 0.5 M)、同じく硫酸イオン SO₄²⁻ 0.26%(26 mM)と、濃縮などの前処理なしに PATP-AgNP で捕捉できることが実証された。

(4) クエン酸還元法で形成した AgNP (as-prepared AgNP)、それを Cl 置換した AgNP (Cl-AgNP) 及び PMBA-SAM 膜形成した AgNP による溶液中の金属イオンの捕捉・状態分析 [14, 15]

4-1) Co²⁺, Cu²⁺, Ba²⁺ についての結果: AgNP 試料(a) について、水溶液中の種々の金属イオンの差吸収分光法による銀ナノ粒子 (AgNP) への吸着量を定量的に分析した (図 1-2, [6])。AgNP 表面は、クエン酸被覆



の他、塩化物置換して測定を行った。差吸収分光法で定量された AgNP への金属イオンの捕捉量は、同じ水溶液の ICP 発光分析法によって確かめられた(表 1)。ここでは、 Co^{2+} と Cu^{2+} 結果を示すが、これらの結果は非常によく対応しており、本手法 Flocculation-SERS-1 法が、海水中の金属イオンの分析に適用できることを示す。化学還元法で形成した AgNP への金属イオンの静電的な吸着について、ナノ粒子系の DLVO 理論^[13]で予測されるように、表面残留物の持つ負電荷を補償するモル数の対イオン(金属イオン)が捕捉されることを、差吸収分光及び ICP 発光分析により見出した。ラマン信号検出には、AgNP を近接させる必要がある。そのために溶液中の金属塩濃度を増加すると、AgNP 表面のアニオンによる負電荷に対して、対イオンである金属カチオンが AgNP 表面付近に集合し(電気二重層形成とその厚さの低下)、AgNP 間の静電反発が低下し、熱運動エネルギー($k_B T$)により AgNP は、近距離で衝突する頻度が高まり、近接状態形成→凝集→ゲル状→沈殿形成へと進む。実際上、AgNP 試料(a)では、 Co^{2+} 、 Cu^{2+} などの多価イオンには、0.2-0.3 mM の濃度があれば近接状態が形成される(図 3)。PMBA 被覆した時(AgNP 試料(b))には、PMBA のカルボキシレートアニオンと 2:1 の $\text{PMBA} \cdots \text{M}^{2+} \cdots \text{PMBA}$ の特異な吸着構造を有することがラマンスペクトル測定で明らかとなるとともに、置換なし、あるいは塩化物置換後の AgNP に比べて、やや高い表面濃度の M^{2+} イオンが AgNP/PMBA 系により捕捉・検出できた(表 1, 図 4)。興味深いことに、このとき AgNP 表面の PMBA の被覆率と、 M^{2+} 、 M^{+} イオンの濃度が特異的な値のときに、大きなラマンスペクトル変化が観測された。これは、おそらく金属イオンの脱水をと、PMBA とのイオン対形成によるものと考えられる。

4-2) アルカリ金属、アルカリ土類金属についての結果: AgNP 試料(a), (b)について、上記の結果は、可視光領域に吸収を持つ遷移金属イオンだけではなく、アルカリ金属イオンにも適用できる。実際に、 Li^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Cs^+ 、 Mg^{2+} などのアルカリ金属、アルカリ土類金属にも適用し、AgNP 表面への捕捉を、ICP 発光分析及び水と金属イオンのラマンスペクトル測定により確

表 1 差吸収法とICP分析法の比較

	AgNP表面処理	Co^{2+}	Cu^{2+}
差吸収	置換なし	3.9×10^3	3.7×10^3
	塩化物置換	3.5×10^3	3.3×10^3
	PMBA置換	3.2×10^4	6.5×10^4
ICP	置換なし	3.7×10^3	2.4×10^3
	塩化物置換	3.3×10^3	1.3×10^3
	PMBA置換	4.6×10^4	5.4×10^4

図 3

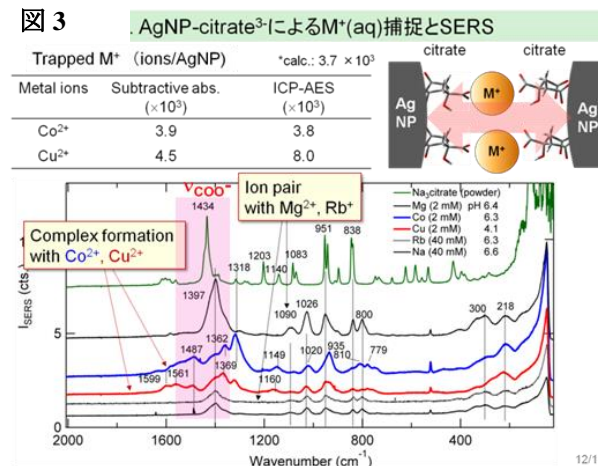
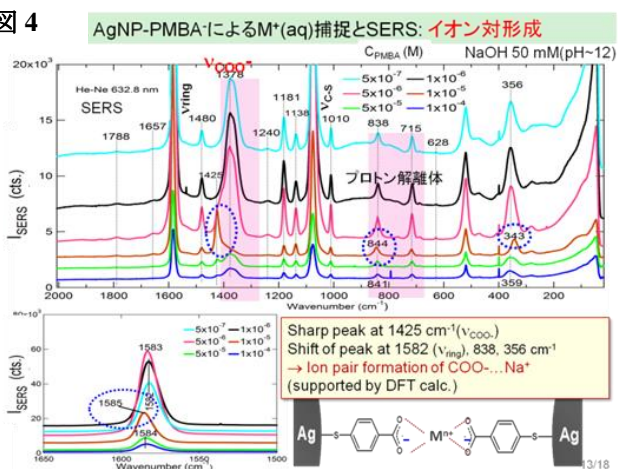


図 4



かめた^[6]。このとき、差吸収法、ICP 発光分析に基づいて見積もられた、AgNP への金属イオンの捕捉量は、ゼータ電位に基づく AgNP 表面のアニオンの総電荷量によく対応した。この目的には、AgNP そのものも適用できるが(図 3)、AgNP 表面に *p*-メルカプト安息香酸(PMBA、フェニル基のパラ位にチオール基-S-H とカルボキシル基-COOH を持つ分子で、AgNP 表面に-S-Ag 結合を形成して単分子層吸着す

る)を吸着させることが有効であることが判明した。PMBAコートしたAgNP(試料(b))では、試料(a)と同様に、AgNPを近接するために10-30 mMの濃度のアルカリ金属イオンが必要であった。実際に、水溶液のpHをPMBAのpKa(=5.9)よりも高くすることで、プロトン解離させ、カルボキシレートアニオンとすることで、溶液中の金属イオンと静電的な引力相互作用が働き、図4に示すようなカルボキシレートイオンの伸縮振動バンドが金属イオンごとに違いを与え、金属イオンの識別できる可能性を見いだした。4-1)、4-2)で測定された金属イオン濃度を、自然水特に海水と比較すると、以下のことが言える。海水中のNaCl質量濃度は約2.7%(約0.5 M)であり、Mg²⁺は0.13%(50 mM)、Ca²⁺は0.04%(10 mM)、K⁺は0.038%(10 mM)となっているので、これらのイオンは、濃縮などの前処理を必要とせず、海水中からAgNPを用いて捕捉・除去できることが示された。

4-3) 捕捉された水和金属イオンの存在状態分析: Flocculation-SERS法において、AgNP表面の負電荷を与えるクエン酸残留物(citrate³⁻, as-prepared AgNP)、ハロゲン化物(ハロゲン化物置換したAgNP, X-AgNP)及びプロトン解離したPMBA⁻アニオン(PMBA-SAM膜でコートしたAgNP, PMBA-AgNP)を用いて、水溶液中の金属カチオンの捕捉を行った。先に示した通り、近接状態形成は+1価のカチオンで10-30 mM, +2価のカチオンで0.2-0.3 mM, +3価のカチオンで<0.1 mMで起こり始めることが分かった。ここでは、特に金属イオンに溶媒和していると推測される水分子の検出を試みた。その結果、X-AgNPを用いたとき、初めて+1~+3価のアルカリ金属イオン(Li⁺, Na⁺, K⁺, Cs⁺)、アルカリ土類金属イオン(Mg²⁺, Ca²⁺, Ba²⁺)、遷移金属イオン(Co²⁺, Cu²⁺, Pb²⁺, Cd²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Hg²⁺)などを水和イオンとして幅広く検出することに成功した。これらの水和金属イオンは、4,000-3,000 cm⁻¹の高波数領域のO-H伸縮振動、及び<700 cm⁻¹の低波数領域の金属イオンと水分子の伸縮振動および変角振動によるラマンバンドを与えた(図5, 6)。ここで検出された水和金属イオンのO-H伸縮振動バンドは、バルク水分子の3200-3400 cm⁻¹のラマンバンドに比べるとずっと高い波数(エネルギー)を持っている。水和金属イ

図5

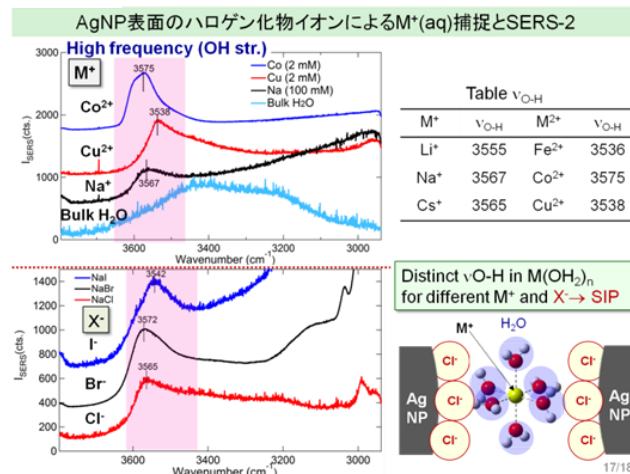
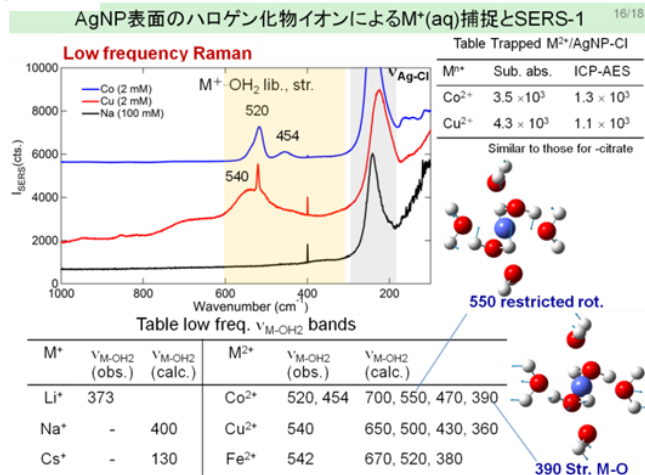


図6



オンでは、一般に金属イオンの周りに一般に4-6個の水分子が双極子モーメントを金属イオンとは反対に向けて(酸素側を金属イオンに向けて)、水和構造を形成している。このとき、中心金属の電荷密度(z^2/r_{M^+} ; z =電荷の価数, r_{M^+} =イオン半径)が大ききとき、水分子は周りのバルク的な水分子と水素結合を形成できないか、弱められる。そのため水和水分子のO-H結合は強くなり、高波数のピークを与える。水和金属イオンでは、金属イオンに水分子が酸素の孤立電子対を使って配位結合を形成している可能性がある。実際、我々は、低波数領域でもM-OH₂の束縛伸縮振動及び束縛回転振動(自由な水分子では自由回転や自由並進運動でラマンスペクトルは観測されないはずの振動モードで、水分子が金属イオンに配位結

合形成しているために、金属イオンの大きな質量のために金属イオンに対する水分子の距離の変化や向きの変化(振動)として観測される)の検出に成功した。そのピーク波数は、金属イオンの種類を変えるとシフトしたことから、また水分子(軽水)を重水に変えた時、10-20 cm^{-1} 低波数シフトしたことから、金属イオンと水分子の間の結合形成を検出していることが証明された^[14]。さらに興味深いことに、水和水分子のO-H伸縮振動バンドのピーク波数が、金属イオンの種類に依存してシフトすること、及びAgNP表面のハロゲン化物の種類に依存してシフトすることを見出した(図5)。これは、水和した金属イオンが、2個のAgNP表面に吸着したハロゲン化物アニオンの間に捕捉され、AgNPのLSPカップリングによる強い電場増強を受けて、大きなラマン信号を出すことで観測された。このとき、 $\text{AgNP}\cdot\text{Cl}^-\cdot\text{H}_2\text{O}\cdot\text{M}^{n+}\cdot\text{OH}_2\cdot\text{Cl}^-\cdot\text{AgNP}$ の近接状態が形成され、 Cl^- アニオンと M^{n+} カチオンの間に1層の水分子が共有された溶媒共有型イオン対(solvent shared ion pair, SIP)を形成していることを示す(図5)。

ここで得られた結果は、水と金属イオンの捕捉・定量分析だけでなく、水和構造に関して、基礎科学的にも興味深い。これまで、多価の金属イオンについて、ここで用いた極希薄な濃度(約1 mM)で多価金属イオンがSIPを形成するという報告は、XANESやXAFSなどの最新の放射光分析でも例がない。そもそもSERS分光を用いても、分子量が小さく分極率が小さいためにラマン散乱断面積が極端に小さい水分子を観測することは極めて困難であり、これまでほとんど報告例がなかった。従来のラマン分光で水と金属イオンを分析する場合、10 M以上の極めて高濃度の水溶液系でなければ、検出はできなかった。当然1 mMレベルの極低濃度でのバルク溶液のラマンスペクトルの検出例はない。本来低濃度では、金属イオンは溶媒分離型のイオン対(solvent separated ion pair, 2SIP)を形成するはずであるが、ここでSIPを見出したことは、水と金属イオンの構造と塩濃度の関係に関して、新しい知見をもたらす可能性がある。表2にまとめるように、さらに幅広い金属イオンについて、水和水分子の分子内振動(O-H伸縮振動およびH-O-H

変角振動のバンド)、及び分子間振動(低波数の束縛並進及び束縛回転振動モードのラマンバンド)が検出され、それらの金属イオンの同定や水和状態の分析に利用できることが明らかになった^[16]。さらに、ハロゲン化物イオンに加えて、チオシアン化物イオン(SCN^-)でAgNP表面のクエン酸イオンを置換した場合にも、ハロゲン化物イオンと同様に、水と金属イオンを捕捉し、そのO-H伸縮、H-O-H変角振動のラマンスペクトル検出に成功した^[15]。

X-AgNPと同様に、as-prepared AgNPやPMBA-AgNPでも、水溶液中の金属イオンと錯体(citrate-AgNPと Co^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{2+} など)を形成すること、およびイオン対(citrate-AgNPとアルカリ金属イオンなど、及びPMBA-AgNPと幅広い金属イオン)を形成することを、flocculation-SERS法を用いて確かめた。実際に、AgNP表面に吸着したクエン酸、及びPMBAのラマンスペクトルが、金属イオンと強く相互作用することで、複数のピークのシフトや強度変化を伴い大きく変化した(図3, 4)。このことは、我々が開発しているflocculation-SERS法が、溶液中の幅広い金属イオンを捕捉・検出できることを証明するとともに、対象となる金属イオンによって、選択的に捕捉・検出できる可能性を意味する。一方で、X-AgNPとは異なり、as-prepared AgNPやPMBA-AgNPでは、金属イオンが捕捉・検出されたがるものの溶媒和水分子は検出されなかった。この点は、水溶液中の金属イオンの水和構造の安定性がAgNPの表面化学種により大きく異なる可能性を示しており、今後引き続き検討する計画である。

以上のように、flocculation-SERS法により、水溶液中の種々の金属イオンを捕捉し、定量分析とともに、状態分析できる見通しを得た。また、捕捉・遠心分離後のAgNP粒子からの金属イオンの再溶解・AgNPのリサイクルをpH制御等で実現できると考えられる。

(5) クエン酸還元法により形成したAuNP(as-prepared AuNP)及び、SP法により形成したAuNP(SP-AuNP)による溶液中の有機分子捕捉・状態分析^[7]

本年度は、溶液中の有機分子として、生体分子であるDNA及びRNA塩基を取り扱った。これらは小さな分

表 2. Flocculation-SERS 法により捕捉された水和金属イオンの MCl^+ , MCl_2 , MCl_3 などの錯形成データと, 水分子のラマンバンドのピーク波数のまとめ

Metal ions	log k ₁	log k ₂	log k ₃	ν_{O-H} (cm ⁻¹)	ν, δ_{M-OH_2} (cm ⁻¹)	注記
Ag ⁺	3.04	2.00	0.00	△3560	△355, 443	ν_{Ag-Cl} =228 幅広・極弱い。数本ピーク
Cd ²⁺	2.00	0.70	-0.59	○3543	△340, 440	+NaCl で多数バンド消失・強度低下
Co ²⁺	-2.4	-	-	◎3572(s) 3596, 3500(sh)	◎458, 518	
Cu ²⁺	0.0	-0.7	-1.5	◎3555, 3515	◎453*, 421*	+NaCl で変化ごく小
Zn ²⁺	-0.5	-0.5	1.00	◎3593	◎391, 438, 716	+NaCl で変化ごく小
Mn ²⁺	3.85	-2.05	-1.36	○3540	◎599, 464	+NaCl で多数のバンド
Fe ³⁺	1.48	0.65	-1.0	× bulk	?	+NaCl で変化ごく小
Fe ²⁺	1.90	-1.90	-	△3420, 3550	△440, 534, 687	+NaCl で多数のバンド
Hg ²⁺	6.74	6.48	0.95			
Pb ²⁺	1.10	1.16	-0.40	×bulk		ν_{Ag-Cl} 極弱い。+NaCl で変化ごく小。
Al ³⁺				△3560	△355, 443	ν_{Ag-Cl} 明確+355, 443 極弱。
Li ⁺				×3420, 3250	△438	ν_{Ag-Cl} 明確+438 極弱。
Na ⁺				△3574	△359, 444	ν_{Ag-Cl} 明確+359, 444 極弱。
Rb ⁺				×3420, 3203	△353	ν_{Ag-Cl} 明確+353 極弱。
Cs ⁺				×3430 bulk	△347	ν_{Ag-Cl} 明確+347 極弱。
NH ₄ ⁺				×3416, 3242	△349	ν_{Ag-Cl} 243+349 極弱。
Co ²⁺	Cl-			○3598, 3569	○518, 459	NaCl (2.6 mM, 30 min 静置) + CoSO ₄ (4 mM) =CoCl ₂ 添加と同じ
	Br-			3565	多数小ピーク	NaBr 30 min + CoSO ₄ (同上), 多数小ピーク
	I-			不明瞭	多数小ピーク	NaI 30 min + CoSO ₄ (同上), 多数小ピーク
Na ⁺	Cl-			○3560	◎3565*	ν_{Ag-Cl} 240*, 多数の小ピーク強度低下
	Br-			○3572	◎3556*, 3520*, 3350*	ν_{Ag-Br} 160*, 多数小ピーク強度増加。 よりシャープ
	I-			△3574	△3534*	$1\nu_{Ag-I}$ 114*, 多数小ピーク強度増加
Bulk water				3420, 3242		3420 がより強い

◎明瞭, ○かなり明瞭, △やや不明瞭, ×バルクバンドのみ, *NaCl(5 mM, 30 min. 静置)+NaX(X=Cl, Br, I)

子であるが, 一般の自然水中に何らかの事故・事象により放出される有害有機分子(工業材料, 医療材料な

どからのベンゼン, フェノール, ホルムアルデヒド)と同程度の大きさ, 類似した構造を持つとともに, 自然界の

生物の分解等で生じる生体高分子のモデル分子として有効と考えられる。ここではまず、as-prepared AuNPを用いて DNA 及び RNA 塩基の flocculation-SERS 法による捕捉・検出を行った(図 7)。この as-AuNP 表面には、還元反応の原料に含まれるクエン酸と塩化物イオンが吸着している。ζ電位は自然 pH(〜3.9)では-45 mV であり、酸性 pH(〜2)では-33 mV となり表面クエン酸アニオンの約 1/3 がプロトン付加すると推測される(図 8)。DNA・RNA 塩基のうちアデニン(A), グアニン(G), シトシン(C), チミン(T), ウラシル(U)のうち, A, G はプリン(Pu)環を有する相対的に大きな分子であり, C, T, U はピリミジン(Py)環の小さな分子である。さらに, A, G, C は一級アミノ基(-NH₂)を持ち, pK_a〜4 より酸性側ではプロトン付加体, 塩基性側では中性分子として存在する。T, U はそのようなプロトン解離を示さず, 実験に用いた幅広い pH(1<pH<8)領域で, 中性分子として存在する(図 9, 10)。これらの塩基分子は, エネルギー的安定性のよく似た複数のプロトン互変異性体を有する。中性 pH(7)では DNA 塩基のうち, A, G, C が 10⁻⁶ - 10⁻⁷ M の低い濃度で AgNP に吸着し近接させる一方で, T, U は 10⁻⁵ M と約 100 倍高い濃度にしないと近接が始まらないことが明らかになった(図 9)。さらに, pH〜2 の酸性条件では A, G は 10⁻⁷ M, C は 10⁻⁵ M, T, U は 10⁻³ M と, 一級アミノ基とともに環の大きさが近接臨界濃度を決定していることを見出した(図 10)^[7, 8]。これらの分子構造に依存した近接臨界濃度は, as-AgNP での捕捉・吸着が, 塩

図 7

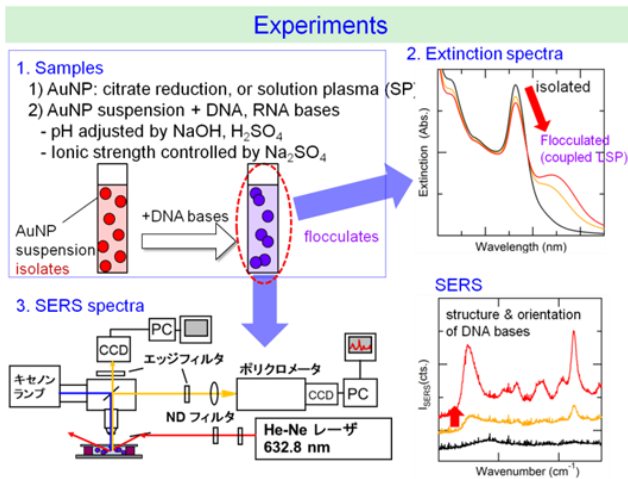


図 8

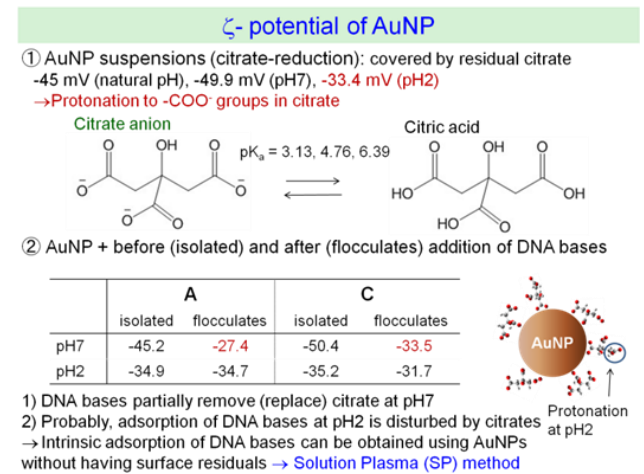


図 9

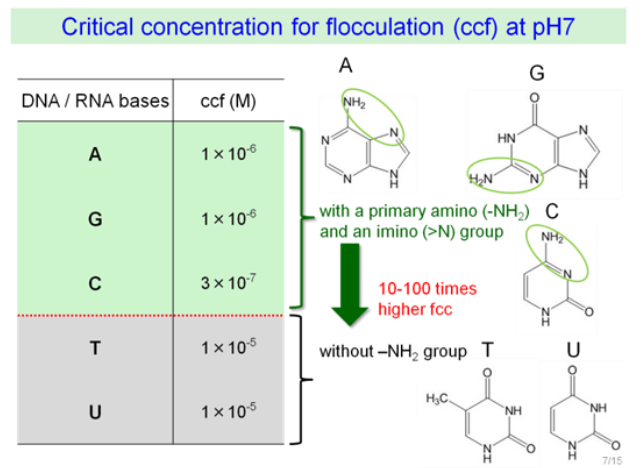
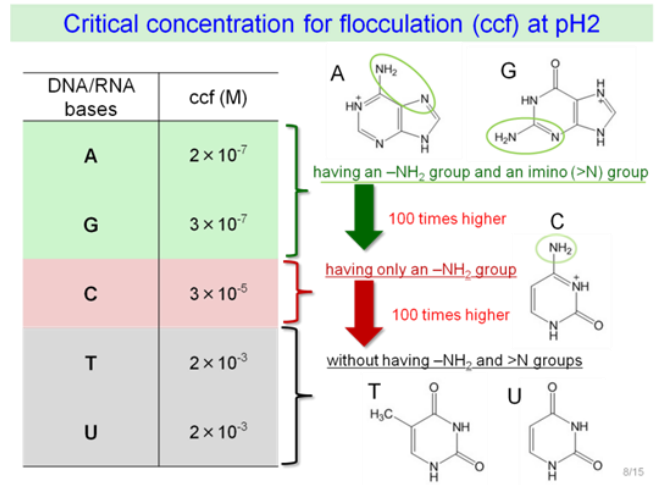


図 10



基分子の一級アミノ基(-NH₂)やイミノ基(>N)を介して、孤立電子対の配位結合形成とともに、酸性条件ではプロトン付加体による静電的相互作用が働いていると解釈できる。SERS スペクトルの測定結果は、それを支持している(図 11, 12)。ここで測定された塩基分子の SERS スペクトルは、それぞれのバルク粉末状態のラマンスペクトルとは、概ね対応はしているが、吸着に伴い一部のピーク波数のシフトや強度の変化が観測された。このことは AuNP と塩基分子とが、極端に大きなものではないが、有意の相互作用を持つことを示している。また、種々の互変異性体や、複数の吸着サイトの存在のために、一義的に吸着構造を決めることは困難であるが、測定された SERS スペクトルに基づいて、DFT 法による理論ラマンスペクトル計算や、バルク塩基のラマン測定、重水素置換体の測定、類似化合物の flocculation-SERS 測定を行い、解析を進めた。その結果、AuNP 表面では複数のプロトン互変異性体の存在や、例えば pH < pK_a でもプロトン解離エネルギーが吸着エネルギーにより部分的に補償されるために、溶液中の pK_a からの予想とはやや異なることが判明した。アデニンの場合、pH < pK_{a1} (=4.2) ではプロトン付加体、pK_{a1} < pH ではほぼ pH > pK_{a2} (=9.8) と同等のプロトン解離したアデニンアニオンのスペクトルが得られた。この実験結果に基づいて、種々の構造について行った DFT 法に基づく量子化学計算により得られた理論ラマンスペクトルと実測値との対応づけから、pH=12, 7, 2 では、それぞれ図 13, 18-20 に示す吸着構造が妥当と考えられる。

さらに as-AuNP 表面のクエン酸残留物も、塩基の捕捉効率や吸着状態に無視できない影響を与えていると考えられる。このクエン酸残留物は、as-AgNP とは異なり、ハロゲン化物イオン添加では置換できないことを確認した。そこで、クエン酸還元法によらない AuNP 合成法を用いて、より効率的な溶液中の有機分子捕捉・吸着の可能性を検討するために、ソリューションプラズマ法により形成した AuNP (SP-AuNP, 実験方法参照)を用いて as-AuNP 系と同様の測定を行った(図 14)。SP-AuNP は、自然 pH (~5.17) でのζ-電位は-50 mV と as-AuNP とほぼ同等であるが、pH < 4 にしたとき凝集を起こした(図 15, as-AuNP はややζ電位が低下するのみで凝集しない)。AuOH 表面の等電位点(isoelectric point, IEP = 表面電

図 11

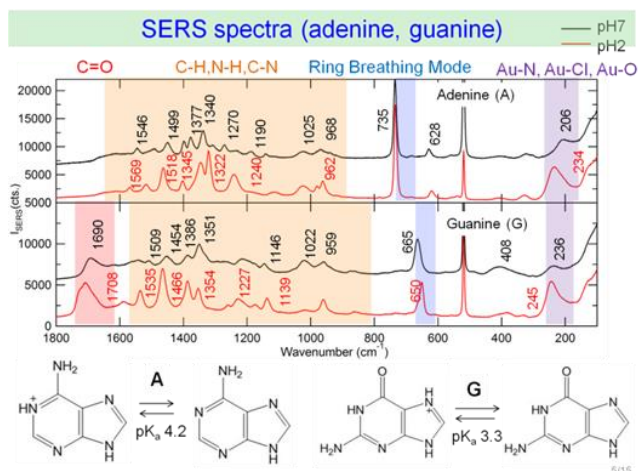


図 12

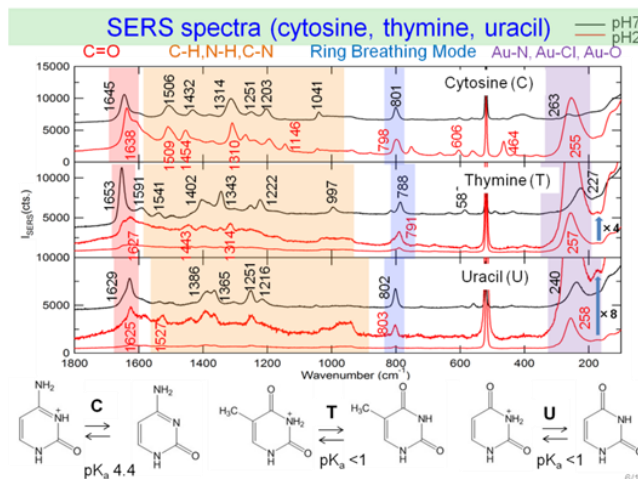


図 13

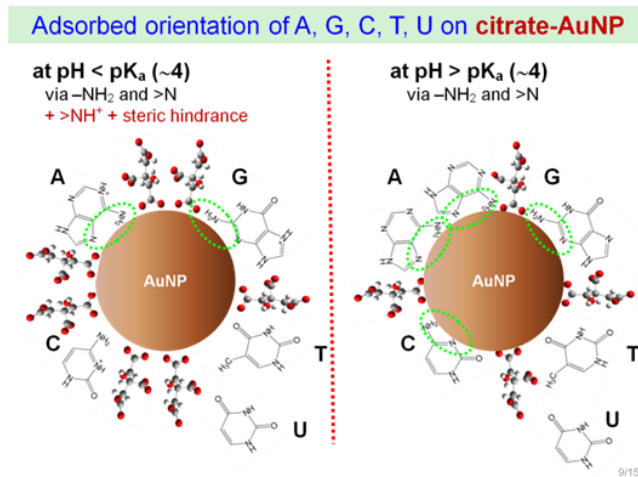


図 14

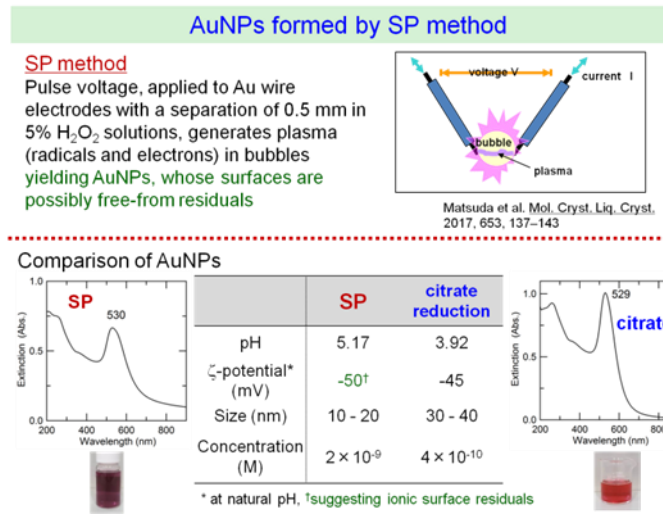


図 16

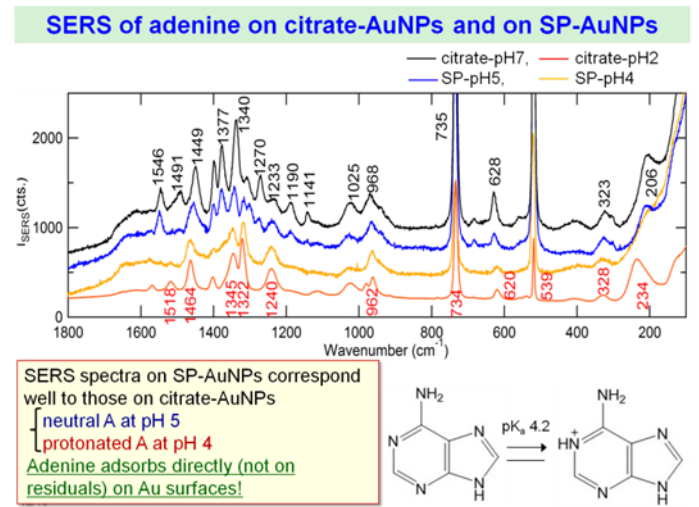


図 15

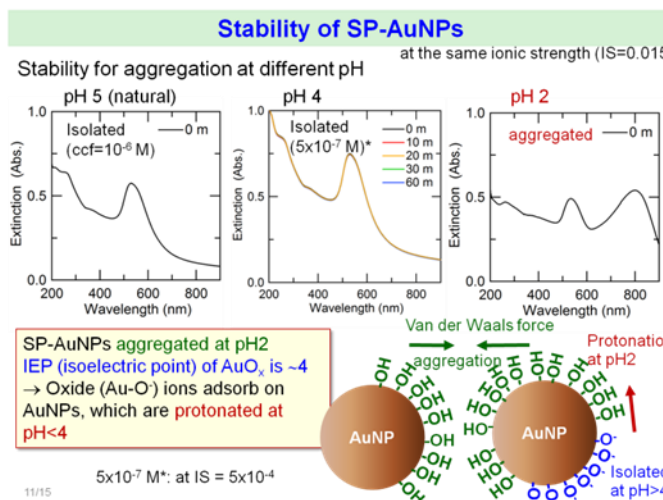
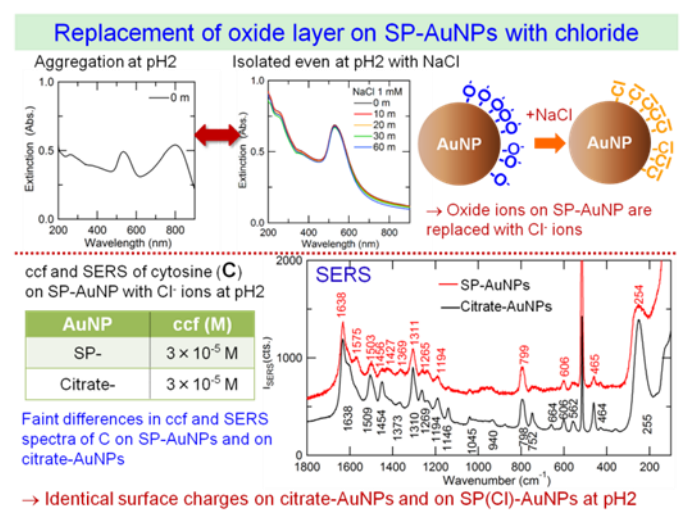


図 17



荷が 0 になる pH, pH < IEP ではプロトン付加体が生じる) が ~4 であることを合わせて考えると, SP-AuNP 表面は AuO_x 酸化物 (pH > IEP では, AuO⁻ アニオン) で覆われているものと推測される。これは, SP-AuNP 合成時に水溶液中に過酸化水素を添加したためと考えられる。この SP-AuNP 表面の酸化物は, as-AuNP とは異なり, ハロゲン化物置換が可能であった。実際, SP-AuNP 分散液への NaCl 添加で, 塩化物置換すると, pH ~2 でも凝集しないことが確かめられた。このような特性を持つ SP-AuNP を用いて, DNA・RNA 塩基の捕捉・吸着性を調べた。その結果は, 基本的に as-AuNP とほぼ同様であった (図 16)。実際, pH ~2 での A の近接臨界濃度は

SP(Cl)-AuNP と as-AuNP で, ともに 3 × 10⁻⁵ M と一致し, SERS スペクトルもほぼ一致した (図 17)。中性条件での他の塩基の吸着性や SERS スペクトルも, SP-AuNP と as-AuNP でよく対応した結果が得られた。これらのことから, SP-AuNP でも, as-AuNP と基本的な DNA・RNA 塩基分子の捕捉・吸着効率に違いはないことが判明した。SP-AuNP 合成時の溶液組成を変えることで, SP-AuNP 表面の残留物の種類や量の制御することで, 効率改善を引き続き検討する計画である。同時に, ここまでの測定で異なる合成法による as-AuNP, SP-AuNP を用いた時, pH を変えた時の DNA, RNA 塩基の SERS スペクトルが, バルク粉末のラマンスペクトルとは有意の違いを

持ちつつ、かつよく一致したことは、これらの化学種が直接 AuNP 表面に吸着していることを示す(図 13)。もし、クエン酸や酸化物、ハロゲン化物を介して AuNP に吸着しているのであれば、表面種との相互作用の違い、配向性の違いのために、一致したスペクトルは与えないはずである。

この結果は、逆に AuNP や AgNP を幅広い有機物の吸着・検出に用いる場合には、凝集を抑えるためには、ナノ粒子表面に表面電位(ゼータ電位 $|\zeta|$ として ~ 30 mV 以上)を与える表面電荷密度が必要である必要であることを思い出させる。そうでなければ高分子でナノ粒子表面を修飾する必要があるが、その場合は対象化学種の定量的な吸着・状態分析は困難であろう。そのため、結局どのような金属ナノ粒子合成法によろうとも、残留物あるいは修飾物質による表面電位を確保し、その制御により、対象化学種の吸着をできるだけ効率的に行うほかはない。このために、クエン酸還元法により合成した as-prepared AgNP 分散液(1.0 mL)の遠心分離と、上澄み液(0.9 mL を除いた濃厚分散液(0.1 mL)に純水(0.9 mL)を追加して再分散を繰り返したところ、2 回終了後では凝集は起きなかったが(クエン酸濃度 1/100)、3 回終了後(クエン酸濃度 1/1000)は一部(6 本のうち 2 本)ですぐに凝集が起り始め、1 日放置後 6 本とも凝集した。これは、AgNP 表面の残留クエン酸被覆率が、溶液中のクエン酸との吸着平衡により決まっていることを示す。この過程は、目視に加えて MNP 分散液の extinction spectra 測定やゼータ電位測定でモニタできる。このような遠心分離と再分散を複合した簡便な方法で、MNP 表面クエン酸被覆率及び表面電位を制御することが可能であることが判明した。

以上のように、我々の flocculation-SERS 法は、溶液中の有機分子の捕捉・検出に利用できることが明らかになった。今後、より高効率の捕捉・検出のために、表面種の種類や量を制御する必要がある。

5. 結論と将来展望 [7, 9-12, 14]

本研究により、海水中の Na^+ , Cl^- のほか、 Mg^{2+} , Ca^{2+} , SO_4^{2-} はそのまま前処理なしに捕捉・除去できることが実証された。それら以外の金属カチオンも、1価金属イオンは 10 mM, 多価金属イオンは 0.1-0.3 mM の濃度まで濃縮

図 18

Optimized adsorbed structure and Raman spectra of A (pH=12)

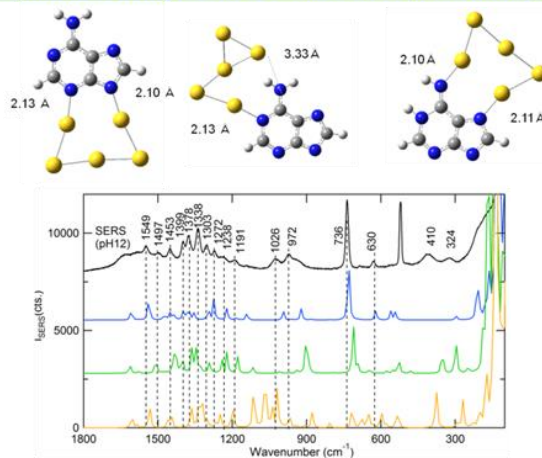


図 19

Optimized adsorbed structure and Raman spectra of A (pH=7)

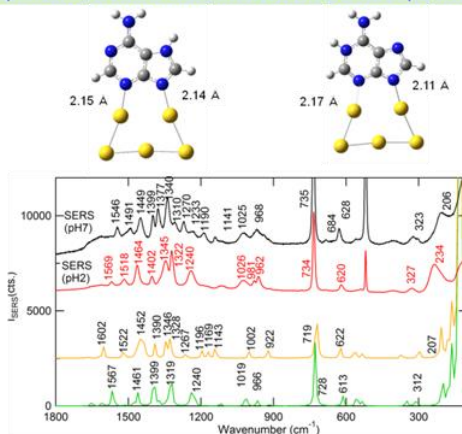
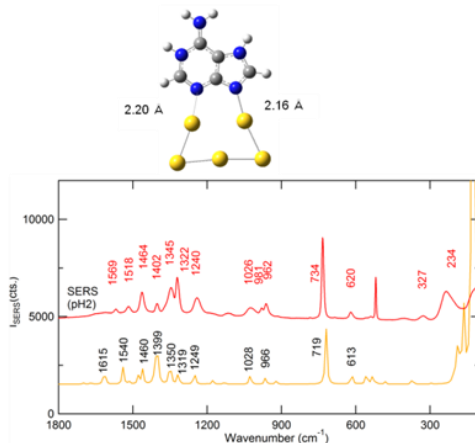


図 20

Optimized adsorbed structure and Raman spectra of A (pH=2)



することで捕捉除去が可能であることが明らかになった。より詳しい結論と将来展望は以下の通りである。

- (1) as-prepared AgNP(試料(a))を使用して、溶液中の金属カチオンの効率的捕捉と定量分析に成功した。
- (2) PMBA-SAM膜をコートした AgNP(試料(b))を用いて、溶液中の金属カチオンの効率的捕捉と定量分析に成功した。As-prepared AgNP とほぼ同程度の捕捉効率が実証された。PATP-SAM コートした AgNP を用いて、溶液中のアニオンの効率的捕捉と定量分析、状態分析に成功した。
- (3)ハロゲン化物イオンで as-prepared AgNP(試料(a))表面のクエン酸を置換した AgNP 系で、多価の水和重金属イオンについて、初めて希薄水溶液での金属/水溶液界面の水分子のラマンスペクトル測定に成功した。高波数領域の O-H 伸縮振動とともに、低波数領域の金属イオン-水分子の伸縮振動バンドの検出を行い、金属イオン及びハロゲン化物イオン依存性を詳しく解析した。価数の異なるアルカリ金属、アルカリ土類金属、13 属典型元素金属や遷移金属まで、種々の金属イオンが、AgNP 表面のクエン酸イオン、PMBA アニオン、ハロゲン化物イオンと静電的相互作用を用いて非特異的に捕捉検出されることとともに、クエン酸イオンと Cu^{2+} 、 Co^{2+} 、 Fe^{2+} のような遷移金属イオンが錯体形成により特異的に捕捉検出されることを見出した。このとき、DLVO 理論に従い、+2 価以上の金属イオンは <1 mM 以下のごく低濃度の水溶液から捕捉・ラマン検出できることを見出した。特に、ハロゲン化物置換した AgNP(X-AgNP)系で、捕捉検出された金属イオンは、溶媒共有型イオン対(SIP)を形成していることが初めて明らかになった^[14]。さらに、幅広い金属イオンについて、表2にまとめたように flocculation-SERS 法により、水和水分子の分子内振動(O-H伸縮振動およびH-O-H変角振動のバンド)、及び分子間振動(低波数の束縛並進及び束縛回転振動モードのラマンバンド)が検出され、それらの金属イオンの同定や水和状態の分析に利用できることが明らかになった^[16]。
- (4) 海水中有機分子の捕捉・状態分析:海水中に含まれる有機分子のうち、イオン性の化学種は上記と同様の静電的相互作用により AgNP, AuNP で捕捉し、除去、

状態分析を行うことができることが明らかとなった。有機分子のうち、中性 pH 条件で非イオン有機分子である DNA 系分子については、AuNP 表面に配位結合形成により吸着させることが可能である^[7, 8]。それにより近接状態を形成し、有機分子の識別、状態分析を行うことが可能である。AuNP 表面残留物の影響を調べた結果、クエン酸還元法により合成した AuNP(as-AuNP)とソリユーションプラズマ法により合成した AuNP(SP-AuNP)では、表面残留物はクエン酸と酸化物と異なるものの、DNA・RNA に対してほぼ同等の特性(表面電荷、被覆率)を持ち、塩基分子の吸着状態は非常によく一致していることが判明した。このことから、as-AuNP と SP-AuNP に対して、これらの有機分子が結合電子対を用いて AuNP 表面に直接吸着することが確かめられた。表面被覆率の量や種類の制御により、さらに高効率での有機分子の捕捉・状態分析が可能になると期待できる。また、有機分子として、フミン酸などの生体高分子、ダイオキシン系の有害汚染物質の AgNP への吸着・捕捉と、遠心分離除去、AgNP 表面の塩化物置換による有機物除去・AgNP 再生について、今後引き続き検討する。

- (5) 海水中の金属カチオン及び硫酸等のアニオン及び有機分子の捕捉・分離を進めた。引き続き、アニオン捕捉・定量分析について、酸性条件($\text{pH} < \text{pKa}$)でプロトン付加体として PATPH⁺として AgNP に吸着させる。この AgNP 表面の PATPH⁺との静電引力により、試験水及び海水中のアニオン Cl^- 、 ClO_4^- 、 SO_4^{2-} 、 PO_4^{3-} 、 CO_3^{2-} などを捕捉し、定量分析及び状態分析を継続する。
- (6) as-prepared MNP の残留クエン酸被覆率の低減・表面電位の制御のために、遠心分離と上澄み液除去後、純水添加と再分散を繰り返す方法で、ゼータ電位・extinction spectra とその時間依存性を測定しながら、遠心分離により MNP 表面クエン酸被覆率及び表面電位を制御することが可能であることが判明した。今後精密な制御法の確立を進めることで、弱吸着性の幅広い化学種への flocculation-SERS 法の適用と定量状態分析を進める。

以上のように、flocculation-SERS 法が、自然水中の典型元素金属イオンから有害な遷移重金属イオンやアニオ

ン、有機分子の捕捉・除去(分離)に有効であり、かつそれらの化学物質の存在状態についても、詳しい情報を与えることが明らかになった。

6. 参考文献

- (1) M. Futamata et al., *Physical Chemistry and Chemical Physics* 13 (2011) 12454-12462, *Journal of Physical Chemistry C* 115 (2011) 5271-5279, *ibid.* 114 (2010) 7502-7508, *Journal of Raman Spectroscopy* 44 (2012) 406-411.
- (2) P. C. Lee, D. J. Meisel, *Journal of Physical Chemistry* 1982, 86, 3391-3395.
- (3) D. D. Evanoff, G. Chumanov, *Journal of Physical Chemistry B*. 2004, 1008, 13957-13962.
- (4) S. Handa, Y. Yu, M. Futamata, *Vibrational Spectroscopy*, 72 (2014) 128-134.
- (5) M. Futamata et al., *Faraday Discussions* 178 (2015) 203-220.
- (6) R. Kuwana, S. Handa, M. Futamata, *submitted*.
- (7) M. Seki, T. Yoshimoto, D-Y. Wu, M. Futamata, *submitted*.
- (8) T. Mukaiyama, M. Futamata, *e-Journal of Surface Science and Nanotechnology* 13 (2015) 223-230.
- (9) C. Iida, K. Akai, J. Murakami, M. Futamata, *Chemical Physics Letters*, 2016, 661, 234-239.
- (10) K. Akai, M. Futamata, *Chemical Physics Letters*, 2017, 675, 63-68.
- (11) K. Akai, C. Iida, M. Futamata, *Journal of Optics* 17, 114008 (2015).
- (12) M. Futamata, K. Akai, C. Iida, and N. Akiba, *Analytical Sciences*, 2017, 33, 417-426.
- (13) J. N. Israelachvili, "Intermolecular and Surface Forces", Academic Press, London, 1991.
- (14) R. Kuwana, S. Handa, M. Futamata, *Chemical Physics Letters*, 2018, 693, 79-83.
- (15) N. Matsuda et al., *Mol. Cryst. Liq. Cryst.* 2017, 653, 137-143.
- (16) K. Tabei, K. Akai, M. Futamata, *submitted*.

Robust Trapping, Removal and Super-Sensitive Characterization of Constituents and Trace Impurity in Sea Water III

Masayuki Futamata

Saitama University

Summary

Purpose: It is crucially important to trap various metal ions such as Na^+ , Mg^{2+} , K^+ , and anions like Cl^- , Br^- and SO_4^{2-} from marine water to exploit marine water as natural resources and to remove pollutant materials for environmental protection. These metal ions and anions have been collected using ion-exchange resin and ICP-MS analysis. However, they in general need pre-treatment for water samples before the process. In addition, they do not provide detail information on chemical state of materials, for instance if Hg^{2+} ions detected are combined with organic molecules or not. We have investigated flocculation-surface enhanced Raman scattering (SERS), in which the surface state of metal nanoparticles (MNPs) are adjusted to form flocculates by diminished electrostatic repulsion of negatively charged MNPs, or by forming coordination bond via various organic molecules to utilized coupled surface plasmons between flocculated MNPs for highly-sensitive Raman spectroscopy. Here, we have investigated to establish the flocculation-SERS to apply to trap and analyze materials contained in marine water samples.

Summary: We have proved that Mg^{2+} , Ca^{2+} and SO_4^{2-} ions in addition to Na^+ and Cl^- ions are trapped and removed from marine waters with our flocculation-SERS method. Also we confirmed that other metal ions like Li^+ , Na^+ , Fe^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} and NH_4^+ can be trapped by condensing natural water samples, for instance to 10 mM for monovalent ions and 0.1-0.3 mM for divalent ions. We also succeeded to elucidate solvated metal ions using flocculation-SERS. In addition, organic molecules like DNA, RNA bases were quantitatively trapped and characterized by the same method we developed. Furthermore, we found that coverage of surface residuals like citrate anions and oxide layer can be feasibly controlled using centrifugation and re-suspension in pure water, which yields lower surface potential and higher bare surface area of AuNPs.

References:

- (1) K. Tabei, K. Akai, M. Futamata, *submitted*.
- (2) R. Kuwana, S. Handa, M. Futamata, *Chemical Physics Letters*, 2018, 693, 79-83.
- (3) M. Seki, T. Yoshimoto, D-Y. Wu, M. Futamata, *submitted*.
- (4) C. Iida, K. Akai, J. Murakami, M. Futamata, *Chemical Physics Letters*, 2016, 661, 234-239.
- (5) K. Akai, M. Futamata, *Chemical Physics Letters*, 2017, 675, 63-68.
- (6) M. Futamata, K. Akai, C. Iida, and N. Akiba, *Analytical Sciences*, 2017, 33, 417-426.