

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	凍結表面増強ラマン散乱。高感度で定量的なSERS 測定へのアプローチ
Title(English)	Freeze Surface Enhanced Raman Scattering. An Approach to Highly Sensitive and Quantitative SERS Measurements
著者(和文)	福永悠
Author(English)	Yu Fukunaga
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12646号, 授与年月日:2024年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:福原 学,岡田 哲男,火原 彰秀,河野 正規,大島 康裕,西野 智昭
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12646号, Conferred date:2024/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	化学 化学	系 コース	申請学位 (専攻分野)： 博士 Academic Degree Requested Doctor of	(理学)
学生氏名： Student's Name	福永 悠		審査員主査： Chief Examiner	福原 学

要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters)

ラマン分光は分子の構造や配向、相互作用などの多岐に及ぶ情報を与え、環境、生体分析など多様な分野で重要な役割を果たしている。しかし、検出感度が低く、適用できる試料や測定系が限定的である。ラマン分光を高感度化する手法として表面増強ラマン散乱 (SERS) が知られている。SERS は金属の表面プラズモン共鳴 (SPR) による電場を利用することでラマン信号を 10^4 - 10^{12} 倍増強できる。SERS 計測には金属表面の粗さや金属ナノ粒子の凝集が必要である。これまでに高度に制御された基板やナノ粒子が提案されているが、複雑で調製困難なものが多い。また、金属表面間の距離などに依存して計測毎に SERS 強度が変動するため、定量性が低いという課題がある。これらの理由から SERS の汎用性は低く、有用な実用例は限られている。

本研究は簡便で高感度な SERS 計測を行う手法として、凍結に着目した。塩や糖、アルコールなど凍結保護剤の水溶液を凍結すると溶質は氷結晶から排除され、氷結晶粒界に液相 (FCS) として濃縮される。凍結によりナノ粒子を FCS に濃縮し凝集を促すことで、簡便に SERS に適した状況を作り出せると考え、(1)凍結による銀ナノ粒子 (AgNP) の凝集制御と高感度な SERS 計測を試みた。その結果、凍結により SERS の試料調製を簡便化し、ラマン分光を高感度化できることがわかった。一方、凍結は課題の一つである定量性の低さを改善できなかった。そこで、内部標準を利用した (2)凍結 SERS による核酸塩基のレシオメトリーや (3)SERS 強度分布の統計解析を行った。これにより、定量的な SERS 計測が可能であることを示した。このように、SERS の課題を克服したため、これまでラマン分光が適用できなかった場面に本研究の適用が可能になった。その例として、本アプローチを (4)薄層クロマトグラフィー (TLC) の検出、(5)不凍金属ナノ粒子の機構評価に適用することに成功した。

(1)クリスタルバイオレットを試料に用いて高感度化原理の実証を行った。未凍結時には SERS スペクトルは確認できなかったが、凍結により十分なシグナル強度が得られた。中性凍結保護剤を加えたとき、凍結 SERS 強度は FCS 内の AgNP 濃度が臨界凝集濃度付近のときに極大となった。これらの結果から、中性凍結保護剤を加え試料を凍結することで、SERS に適する凝集状態を実現できることが明らかになった。

(2)DNA 核酸塩基 4 種類を同時計測し、それらを相互に内部標準として利用したレシオメトリーを行った。SERS 強度の相対標準偏差は 50 % を越える場合もあり、計測毎に大きく変動した。しかし、スペクトル分離後、チミンを内部標準と見なして他の 3 種類の塩基について相対強度を求めた結果、相対標準偏差は 10-20 % 程度に減少した。よって、SERS の相対強度を取ることで SERS に伴う強度変動を改善できることが示唆された。重回帰分析後、全ての核酸塩基に関して、チミンを標準とした相対濃度と相対強度に良好な線形関係が得られた。以上のように、相互内部標準物質を利用するレシオメトリーにより、SERS 強度の再現性を改善し、凍結 SERS の定量的利用が可能であることを示した。

(3)SERS の信号強度分布 (SID) を統計解析し、強度変動の確率論的挙動を特徴づけることで SERS による定量計測を行った。SERS 強度は計測毎に変動したが、SID は指数関数で畳み込んだガウス関数によりフィッティングした結果、元の分布とよく一致する曲線が得られた。このとき、フィッティングによって得られた統計値は目的試料の濃度と相関があり、その相関を利用することで SERS を定量的に利用できることがわかった。

(4)凍結 SERS を TLC の検出に用いることで、試料の分離と簡便な高感度検出・構造解析を行った。微量分析の需要の高い 4 種類の農薬について、TLC による混合試料の分離と凍結 SERS による検出を行った。未凍結時にはスペクトルが確認できなかった濃度域の試料でも凍結により構造解析を行うのに十分な強度の SERS スペクトルが得られた。凍結 SERS により 100 nm の農薬の検出が可能であり、凍結により TLC 上の試料の検出可能濃度域を 1000 倍程度向上できた。実試料への応用例として、4 つの重要な有機合成の反応追跡に本手法を適用した。類似した構造を持つ副生成物が存在する場合でも、目的物を明確に同定できた。また、反応を速度解析し、反応終了時間を定量的に決定できることが示された。

(5)凍結 SERS を不凍 AgNP の機構評価に適用した。未修飾の AgNP は氷の再結晶化を阻害しなかったが、メルカプトピリミジン誘導体を修飾することで阻害効果を持つことがわかった。凍結前後の SERS 計測により、この阻害効果の起源は粒子の外層の水素原子やメチル基と FCS 中の水との相互効果にあることが明らかになった。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ (T2R2) にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)
Doctoral Program

論文要旨

THESIS SUMMARY

系・コース： Department of, Graduate major in	化学 化学	系 コース	申請学位（専攻分野）： Academic Degree Requested	博士 Doctor of	(理学)
学生氏名： Student's Name	福永 悠		審査員主査： Chief Examiner	福原 学	

要旨（英文 300 語程度）

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Raman spectroscopy is a powerful method to characterize molecules in various media. Although surface-enhanced Raman scattering (SERS) is often employed to compensate for the intrinsically poor sensitivity of Raman spectroscopy, there remain serious tasks, such as simple preparations of SERS substrates, sensitivity control, and reproducible measurements.

The primary objective of this thesis is to propose a novel approach to address the challenges hindering the extensive application of SERS. To this end, the author developed freeze SERS (FSERS), which leverages freeze concentration to facilitate simple and sensitive SERS measurements. Freezing induced the enrichment of analytes in the FCS and facilitated the aggregation of silver nanoparticles (AgNPs). This allowed for sensitive SERS measurements in a simple and efficient way. However, FSERS showed stochastic behavior, and the reproducibility of intensity was not dramatically improved by freezing. To address the low reproducibility, the author explored a method for reliable FSERS measurements using ratiometry of multi-target solutes, which acted as mutual internal standard. Reliable quantification was feasible by measuring multiple analytes and taking intensity ratios based on deconvolution of spectra obtained with mixtures of four DNA bases. Quantification using FSERS was also explored from a statistical perspective. The origin of SERS signal fluctuation is characterized by statistical analysis, which provides an analytical basis for quantification.

The secondary objective is to demonstrate the applicability of FSERS in the case where conventional SERS had difficulty. One potential application of FSERS is its use in measurements on thin-layer chromatography plates. This has been studied from various perspectives, including experimental design, pesticide detection, quantification, and the monitoring of chemical synthesis. FSERS has also been applied to the evaluation of unusual phenomena caused by freezing. The behavior of antifreezing AgNPs under freezing conditions has been studied.

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note: Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).