

令和元年6月21日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K05813

研究課題名(和文)超音波による新しい電気化学発光反応場の創出と分析化学への展開

研究課題名(英文) New electrochemiluminescent reactions under ultrasound irradiation and the approach to analytical chemistry

研究代表者

金 継業 (JIN, Jiye)

信州大学・学術研究院理学系・教授

研究者番号：40252118

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：電気化学反応系に超音波を照射されると電極界面での物質移動の促進、電極表面の活性化などの効果が期待され、電気分析化学の領域において注目されている。一方、超音波の電気化学発光(ECL)反応にどのような影響に及ぼすかについて、研究がほとんど進んでいない。本研究では、超音波の周波数によって超音波の物理的な反応場と音響キャビテーションによる化学的反應場の影響をそれぞれ検討し、種々の分析ニーズに応じた新しいECL検出原理の創出に関する基礎研究を行った。それに加えて、超音波により安定性に優れたエマルション、金ナノ粒子/グラフェンの機能性複合ナノ材料の調製にも成功し、環境水分析のセンサーを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

電気分析化学の分野では、超音波をポルタンメトリーに用いた研究が多数報告されているが、ECL反応に適した報告は極めて少ない。反応系の制御が困難であることに加えて、計測の難しさが原因と考えられる。本研究は超音波による物理的または化学的効果を最大限に利用することを工夫して、ECLにおける新規反応の探索と反応機構解析を行うものであり、それらの特徴を十分に活かした新しいECL計測法を提案している。電気化学の基礎的な分野および分析化学の分野を始めとした種々の領域の発展にも広く資する、独創的かつ有意義な研究であると考

研究成果の概要(英文)：The application of ultrasound to electrochemical processes is currently attracting an amount of interest on account of a number of advantages, such as increasing of the mass transport, activation or in situ cleaning of the electrode surface. On the other hand, however, little fundamental study to date has systematically investigated the actual influence of ultrasound irradiation on electrochemiluminescent (ECL) reactions. In this study, both physical effect and chemical effect of ultrasound were examined respectively by using different ultrasonic waves. By fusion of ultrasound with ECL measurement system, new detection principles, such as the Sono-potential modulated ECL, cavitation-induced ECL, Sono-assisted ECL in emulsion system, have been developed for various analytical purposes. Sonochemical methods have also been developed to prepare new nanomaterials for the applications in environmental sensing.

研究分野：分析化学

キーワード：電気化学発光 超音波 キャビテーション 電位変調 金ナノ粒子 薬物分析

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

液体中への強力な超音波の照射は、キャビテーションの発生により局所的な超高温・高圧といった極限環境を創出できることが知られ、90年代以来、超音波がソフトケミストリーの手法として用いられ、材料化学、環境化学などの領域に広く応用されてきた[1]。電極界面に超音波を照射すると、大別して二つの効果が期待できる。一つは超音波振動による攪拌作用、他方はキャビテーション気泡圧壊の際の高温・高圧による化学的作用である。これらの作用によって、電極界面での物質移動の促進、電極表面の活性化や電極反応経路を変え得るなどの効果が期待できる。電気分析化学の分野において、超音波の物質輸送の促進効果によって電解効率を向上することができるが、S/Nの観点からボルタンメトリーの感度向上とは言い難い状況にあった。

電気化学発光 (electrochemiluminescence, ECL) とは、電気化学反応に伴う発光現象であり、励起光源を必要としない、光学系が比較的簡単であるなどの特徴を有するため、近年分析化学の検出方法として用いられるようになった[2]。ボルタンメトリーとは異なり、ECLでは、光の強度のみを検出するため、バックグラウンド電流による影響を殆ど考慮する必要がなく、絶対感度の向上が期待できる。超音波による音響流効果と音響キャビテーション(化学的反應場)が溶液中で *in situ* で形成できる特徴を生かして、新奇的な ECL 反応に至る可能性を秘めている。電気分析化学の分野では、超音波をボルタンメトリーに用いた研究が多数報告されているが、ECL 反応に適した報告は極めて少ない。反応系の制御が困難であることに加えて、計測の難しさが原因と考えられる。本研究では、超音波の物理的または化学的効果を最大限に利用することを工夫して、ECL における新規反応の探索と反応機構解析を行うものであり、それらの特徴を十分に活かした新しい ECL 計測法を提案する。

### 2. 研究の目的

(1) Sono-ECL 反応の基礎的解析と ECL の高感度化 ECL の強度は電極表面における電子移動反応のほか、ラジカル中間体同士の電子交換反応とバルク中にある分子拡散による消光などの過程に支配され、ECL の各素反応過程を理解することが重要である。そこで、Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/トリプロピルアミン、Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>/アスコルビン酸をモデル ECL 反応系として用い、超音波照射と回転ディスク電極で得られた電位-電流曲線と電位-ECL 曲線に対する定量的な検討を行い、超音波照射が拡散層における励起化学種の分布にどのような影響を及ぼすかを解明する。

(2) 超音波誘起した ECL 反応の確立による ECL の分析範囲の拡大: 目的成分を超音波キャビテーションにより分解し、生じたラジカル中間体を ECL で検出する、すなわち、超音波誘起した ECL 計測法を提案する。そして、キャビテーションによる微弱の発光信号を分離できる電位変調 ECL といった新しい計測システムを開発し、ECL 分析範囲の拡大を図る。

(3) 超音波によるエマルジョン増感型 ECL の計測: 超音波により分散安定性に優れたサーファクタントフリー(surfactant free)エマルジョンを調製し、従来有機溶媒の中でしか観察できないような ECL 反応を水相の中で実現する。

### 3. 研究の方法

超音波の照射効果をより系統的に検討するため、まず、図 1(A) に示すように、ITO 電極作用電極と向き合わせた方向に超音波振動子(直径 2 mm; 20 kHz)を設置して超音波 ECL セルを試作する。20 kHz の超音波による化学作用は比較的小さいので、超音波の音響流効果(物理的効果)に着目して ECL 増感効果についての基礎検討を行う。一方、超音波の引き起こすキャビテーションは常温と常圧下においても水から・OH を発生できるので、目的成分を酸化させて、ラジカル中間体などを ECL で検出することが期待できる。ここでは、化学作用の大きい 430 kHz の超音波反応器を用いて、超音波誘起した ECL 検出法の基礎検討を行う。超音波キャビテーションに由来するソノルミネッセンスの発光信号を取り除くために、図 1(B) に示す電位変調 ECL 計測システムを構築し、交流電圧 ( $E_{ac}$ ) に同調した発光シグナルをロックインアンプで検出する方法を検討し、ECL 分析範囲の拡大を図る。

また、超音波によりサーファクタントフリー *o/w* エマルジョンの調製を行う。油滴表面には界面活性剤などの分散剤が吸着していないため、超音波照射下で微細油滴が電極表面衝突し、中に含まれる酸化還元物質が電極と直接的に電荷移動反応を起こすことが期待され、従来有機溶媒の中でしか起きないような電極反応を水溶液の中で実現する。

### 4. 研究成果

(1) 回転ディスク電極などの物理的攪拌に比べて、超音波照射下で得られたボルタモグラムの電解電流は極めて大きい。Compton らは、超音波キャビテーションで生じたマイクロジェット流により物質移動は著しく促進され、電極界面での拡散層が極限に薄められたと説明されている[3]。トリプロピルアミンを共反応物として用いた Ru(bpy)<sub>3</sub><sup>2+</sup>では、超音波照射下において電解時間に依存しない定常状態の ECL 応答が得られ、ECL 感度は静止のときに比べ 1 桁も向上したことが認められた。ボルタンメトリーとは異なり、ECL では光の強度のみを検出したため、

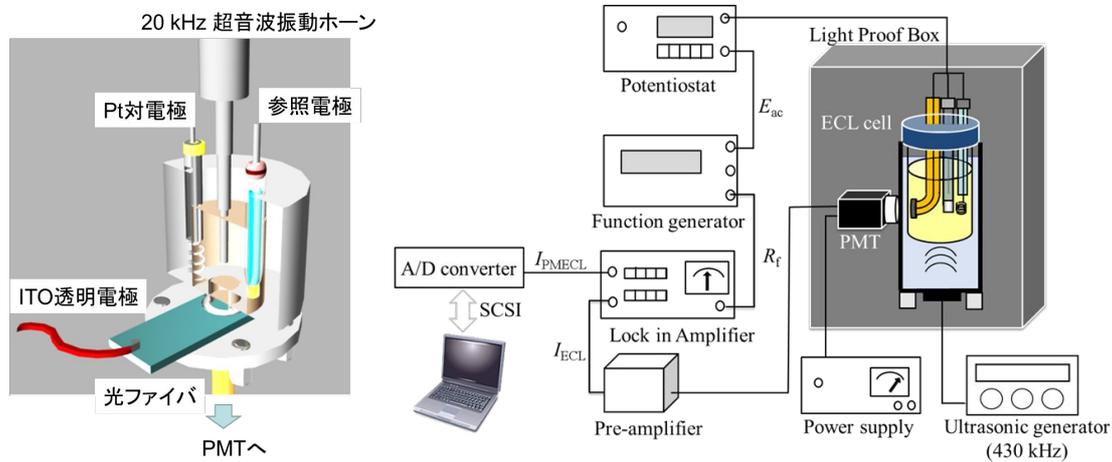


図 1 超音波を用いる ECL 計測の装置。

(A) ホーン型超音波 ECL セルの断面図, (B) 電位変調 ECL 計測システム

超音波による電解効率の向上は ECL の絶対分析感度の改善に寄与したと考えられる。一方, アスコルビン酸を共反応物として用いたときに, 超音波の照射によって ECL 強度が逆に減少した。電極表面に励起化学種  $*Ru(bpy)_3^{2+}$  を生成する反応ルートの他,  $H_2A$  による自己消光ルートを初めに見出し, 消光ルート拡散支配であり, 拡散層の中において  $*Ru(bpy)_3^{2+}$  と  $H_2A$  による電子交換(CT)機構によるものと解明した。ECL 反応は拡散層におけるラジカル中間体同士の電子交換反応とバルク中にある分子拡散による消光などの過程にも支配されたため, 超音波照射により消光ルートを促進する可能性が示唆された。

(2) ECL 反応は本質的に電極表面で生成されたラジカル衝突反応によるものである。しかし, 多くの化合物は電気化学的手法のみでラジカルを生成できないため直接の ECL 応答が示されない。一方, 超音波のキャビテーションでは, 常温, 常圧下において水を熱分解し, ヒドロキシルラジカル ( $\cdot OH$ ) と水素ラジカル ( $\cdot H$ ) を生成する。430 kHz の超音波は  $\cdot OH$  の生成速度が特に大きく, 多くの有機化合物がそれによって酸化され, 還元性の高いラジカル中間体を生じることを分光的手法により追跡できた。麻酔薬であるリドカインが 430 kHz の超音波反応場の中で分解されて, 2,6-キシリジンが生成されたことを GC/MS により確認していた (図 2)。

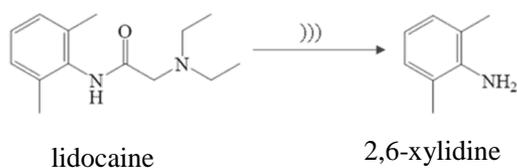


図 2 超音波によるリドカインの分解反応

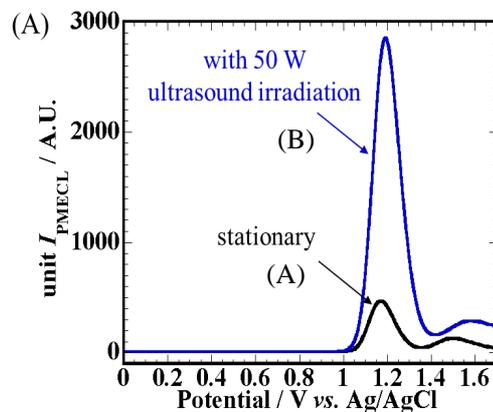


図 3 0.5 mM  $Ru(bpy)_3^{2+}$  と 0.5 mM リドカインを含むリン酸カリウム溶液 (pH11) 中で測定した電位変調 ECL のプロファイル。(A) 静止状態, (B) 430 kHz の超音波照射下。電位変調の条件:  $E_{ac} = 100$  mV、周波数 = 10 Hz。

図 3 には, 0.5 mM  $Ru(bpy)_3^{2+}$  と 0.5 mM リドカインを含むリン酸カリウム溶液 (pH11) の中で測定した電位変調 ECL (potential modulation ECL, PMECL) の応答を示す。電極電位をアノード方向に掃印すると  $Ru(bpy)_3^{2+}$  の酸化電位 ( $E = +1.2$  V) とより正側の電位領域 ( $E = +1.45$  V) 付近に弱い ECL 応答がそれぞれ観測され, リドカインの第 3 級アミン部位の酸化によって生じた還元性ラジカル中間体, またはリドカインの促進酸化の分解によって生じた中間体が電極表面に生成している  $Ru(bpy)_3^{3+}$  との電子交換反応により励起種  $*Ru(bpy)_3^{2+}$  を生成する反応経路と考察している。430 kHz の超音波を照射した場合, +1.2 V 付近の ECL 強度が著しく増大し, 逆に  $E = +1.45$  V 付近の相対強度は低下した。超音波の分解生成物 2,6-キシリジン自体は  $Ru(bpy)_3^{2+}$  の ECL を引き起こさないため, 超音波反応場の中で *in situ* 生成した  $\cdot OH$  がリドカインの促進酸化を起こし, その反応中間体ラジカルは +1.2 V 付近の ECL 強度に寄与したことが考えられる。この挙動は回転ディスク電極上では観測されないことから, 超音波の化学的作用に起因することが確認され, キャビテーション誘起した ECL 計測法の実現は可能であった。

(3) 1-ヘプタノール 50  $\mu\text{L}$  を含む 0.1 M リン酸緩衝溶液 (pH 7.0) に 20 kHz と 490 kHz の超音波を連続照射により,サーファクタントフリーで,安定な o/w エマルジョンの調製に成功した。ルミノール/過酸化水素系の ECL 反応は一般に弱アルカリ性の条件下しか観測できないが,エマルジョン溶液を用いる場合, pH 7 の条件下においても 20 倍も増大した ECL 強度が示され, 0 ~ 50  $\mu\text{M}$  の濃度範囲において過酸化水素の定量を可能にした。エマルジョン溶液によるルミノールの ECL 増感効果について, 油滴に吸着したスーパーオキシドアニオンラジカルの安定化, ルミノールは油滴の中に分配されており水分子によるルミノールの熱失活が抑制されるなどが主な要因と推測している。さらに, 電極表面に超音波を照射しながら ECL を測定した結果, 分析感度と再現性の向上が見られ, これは超音波照射により電極表面での物質輸送促進, 油滴同士の衝突頻度の増大と吸着種の剥離効果によるものと考えられている。本法は, 脂溶性ビタミン E(トコフェロール)の抗酸化作用の分析に適用した。

(4) その他, 超音波のキャビテーションを利用して, 金ナノ粒子や金ナノ粒子/グラフェンの機能性複合ナノ材料の調製に成功し, 環境水中の六価クロムやネライトキシン系殺虫剤を分析するためのセンサーを開発した。

#### <引用文献>

- [1] T. J. Mason (Ed): *Advances in Sonochemistry*, JAI Press, Vol.1 (1990), Vol.2(1991).
- [2] A. J. Bard: *Electrogenerated Chemiluminescence*, Marcel Dekker, New York, 2004.
- [3] R. G. Compton, J.C. Eklund, F.Marken, T.O. Rebbitt, R.P. Akkermans and D.N. Waller, *Electrochim.Acta*,42, 2919 (1997).

#### 5 . 主な発表論文等

##### [雑誌論文](計4件)

- [1] F. Takahashi, N. Yamamoto, M. Todoriki, J. Jin, Sonochemical preparation of gold nanoparticles for sensitive colorimetric determination of nereistoxin insecticides in environmental samples, *Talanta*, 188, 651-657(2018). 査読有, DOI:10.1016/j.talanta.2018.06.042
- [2] T. K. Sari, F. Takahashi, J. Jin, R. Zein, and E. Munaf, Electrochemical Determination of Chromium (VI) in River Water with Gold Nanoparticles with Graphene Nanocomposites Modified Electrodes, *Analytical Sciences*, 34(2), 155-160(2018). 査読有, DOI:10.2116/analsci.34.155
- [3] F. Takahashi, S. Nitta, R. Shimizu, J. Jin, Electrochemiluminescence and voltammetry of tris(2,2'-bipyridine)ruthenium (II) with amphetamine-type stimulants as coreactants: an application to the discrimination of methamphetamine, *Forensic Toxicol*, 36,185-191(2018). 査読有, DOI:10.1007/s11419-017-0388-3
- [4] M. Matsuoka, F. Takahashi, Y. Asakura, J. Jin, Sonochemiluminescence of lucigenin: Evidence for superoxide radical anion formation by ultrasound irradiation, *Japanese Journal of Applied Physics*, 55, 07KB01-07KB06(2016). 査読有, DOI: 10.7567/JJAP.55.07KB01

##### [学会発表](計24件)

- [1] Jiye Jin, Sonoanalytical chemistry: Fundamentals and Applications, International Symposium on Analytical Chemistry in East China Normal University, Shanghai, China, Nov. 2019 (Invited speaker)
- [2] 清水亮, 金 継業, 高橋 史樹, 超音波照射条件下でのルテニウム錯体/リドカイン系の電気化学発光挙動, 第 49 回 中部化学関係学協会支部連合秋季大会, 2018 年 11 月
- [3] 森角祐馬, 長井滉也, 高橋史樹, 金継業, 原哲史, ロイドテイサートン, 柴田路子, ルミノールのカソ-ディック電気化学発光による茶葉の抗酸化能評価, 第 49 回 中部化学関係学協会支部連合秋季大会, 2018 年 11 月
- [4] 菅沼福仁, 中山雅之, 長井滉哉, 高橋史樹, 金継業, Closed 式バイポーラ電極を用いるルミノールの電気化学発光反応による過酸化水素の定量, 第 49 回 中部化学関係学協会支部連合秋季大会, 2018 年 11 月
- [5] 高橋 史樹, 山本 直人, 等々力 深雪, 金 継業, 超音波合成法を利用した機能性金ナノ粒子の調製と簡便な高感度ネライストキシン農薬分析への応用, 日本法中毒学会第 37 年会, 昭和大学, 2018 年 10 月
- [6] 等々力 深雪, 山本 直人, 金 継業, 高橋 史樹, 超音波法を用いて調製した機能性金ナノ粒子によるネライストキシン農薬成分の高感度比色分析, 日本分析化学会第 67 年会, 2018 年 9 月
- [7] 中山 雅之, 今井 勇勝, 北野 拓磨, 高橋 史樹, 金 継業, CdTe 量子ドットの電気化学発光反応における粒子サイズ効果の考察, 日本分析化学会第 67 年会, 2018 年 9 月
- [8] 中澤朝之, 清水亮, 金継業, 高橋史樹, 油水混和系における共反応物型ルテニウム錯体の電気化学発光挙動, 日本分析化学会 中部支部・近畿支部 合同夏期セミナー, 2018 年 8 月
- [9] 山本 直人, 等々力 深雪, 高橋 史樹, 金 継業, 金ナノ粒子の凝集効果を利用したネライストキシン農薬成分の化学センシング, 第 48 回 中部化学関係学協会支部連合秋季大会,

2017年11月

- [10] 長井 滉哉, 森角 祐馬, 高橋 史樹, 金 継業, Closed式バイポーラ電極を用いるルミノールの電気化学発光反応の基礎検討, 第48回 中部化学関係学協会支部連合秋季大会, 2017年11月
- [11] 金 継業, 菅沼 福仁, Sri Mulyati, 村上 竜, Cu( )イオンの電気化学還元過程における超音波照射の影響, 第26回ソノケミストリー討論会, 2017年10月
- [12] 菅沼 福仁, 春山 直紀, 高橋 史樹, 金 継業, 脂肪族アミンを共反応物としたルシゲニンの超音波化学発光反応, 第26回ソノケミストリー討論会, 2017年10月
- [13] 森角 祐馬, 長井 滉哉, 高橋 史樹, 金 継業, 原 哲史, ロイド ティ サートン, 柴田 路子, ルミノールのカソ-ディック電気化学発光によるポリフェノール化合物の抗酸化能評価の検討, 日本分析化学会第66年会, 2017年9月
- [14] 高橋 史樹, 清水 亮, 金 継業, リドカイン麻酔薬を共反応物とした[Ru(bpy)<sub>3</sub>]<sup>2+</sup>系の電気化学発光反応における超音波照射の影響, 第26回ソノケミストリー討論会, 2017年10月
- [15] 清水亮, 金継業, 高橋史樹, リドカインを共反応物としたルテニウム錯体(Ru(bpy)<sub>3</sub>)<sup>2+</sup>系の電気化学発光反応の解析, 日本分析化学会第66年会, 2017年9月
- [16] 長嶋 恵里佳, Trisna Kumala, Sari, 高橋 史樹, 金 継業, グラフェン-金ナノコンポジット修飾グラッシーカーボン電極によるグルコースの電気化学的検出, 日本分析化学会第66年会, 2017年9月
- [17] 新田咲, 金継業, 高橋史樹, メトキシフェナミン鎮咳成分の高感度検出に向けた電位変調-電気化学発光挙動の解析と応用, 日本分析化学会第77回分析化学討論会, 2017年5月
- [18] 金 継業, 電気化学発光とソノケミルミネッセンスによる抗酸化能評価法の開発, 日本分析化学会第77回分析化学討論会, 2017年5月
- [19] 春山 直紀, 松岡 聖典, 金 継業, 超音波反応場におけるスーパーオキシドアニオンラジカルの生成反応と検出, 第25回ソノケミストリー討論会, 2016年10月
- [20] 金 継業, 松岡 聖典, 高橋 史樹, 原 哲史, ロイド, ティ サートン, 柴田 路子, 電気化学発光によるスーパーオキシドアニオンに対する特異的抗酸化能評価法の開発, 日本分析化学会第65年会, 2016年9月
- [21] 新田 咲, 金 継業, 高橋 史樹, 電位変調-電気化学発光法を利用したメトキシフェナミン鎮咳成分の高感度検出法の開発と応用, 日本分析化学会第65年会, 2016年9月
- [22] 長井 滉哉, 松岡 聖典, 高橋 史樹, 金 継業, エマルションによるルミノール電気化学発光反応の増感と超音波の照射効果, 日本分析化学会第65年会, 2016年9月
- [23] 北野 拓磨, 松岡 聖典, 高橋 史樹, 金 継業, CdTe量子ドット修飾電極の作成とそれを用いた共反応物型電気化学発光反応の考察, 日本分析化学会第65年会, 2016年9月
- [24] 春山 直紀, 松岡 聖典, 金 継業, 超音波反応場におけるスーパーオキシドラジカルアニオンの生成と検出, 日本分析化学会第76回分析化学討論会, 2016年5月

〔産業財産権〕

出願状況(計1件)

名称: 電気化学発光を用いた薬物の検出システム,

発明者: 金 継業, 高橋 史樹, ロイド ティサートン, 柴田 路子, 原哲史

権利者: 株式会社八光電機, 信州大学

種類: 特許

番号: 特願 2017-174488

出願年: 2017年

国内外の別: 国内

〔その他〕

ホームページ等 <http://science.shinshu-u.ac.jp/~chem/bunseki/>

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名: 高橋 史樹

ローマ字氏名: (TAKAHASHI, Fumiki)

所属研究機関名: 信州大学

部局名: 学術研究院理学系

職名: 助教

研究者番号(8桁): 40754958

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。