

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月21日現在

機関番号：10101  
 研究種目：基盤研究（B）  
 研究期間：2009～2011  
 課題番号：21310072  
 研究課題名（和文） 表面ナノ加工基板を用いた表面支援レーザー脱離イオン化質量分析システム  
 研究課題名（英文） Surface-assisted laser desorption/ionization mass analysis system with nano-scale surface modified sample substrate  
 研究代表者  
 米澤 徹（YONEZAWA TETSU）  
 北海道大学・大学院工学研究院・教授  
 研究者番号：90284538

## 研究成果の概要（和文）：

低分子の解析に最適なナノ基板を用いる表面支援 LDI(SALDI)システムの開拓を行った。合金からの Dealloy 法によって、電気化学的エッチングによりナノポーラス白金基板の作製を行い、成功した。また、合金組成の違いによって、ナノポーラス構造が大きく変化していることを見出した。この基板を SALDI に用いたが、有機化合物の脱離・イオン化は熱拡散により困難であった。それに対し、半導体微粒子の集積法による LDI 用試料基板形成を行い、LDI 質量分析に用いたところ、効率よく化合物が脱離・イオン化されることが明確となった。

## 研究成果の概要（英文）：

Development of surface assisted LDI (SALDI) system used for analyses of low molecular compounds has been carried out. Dealloy process with electrochemical etching could successfully provide nanoporous platinum plate. The structure of nanopores strongly varied with the alloy composition. These plates were applied as SALDI-MS sample plate, desorption/ionization of organic compounds could not be detected. On the other hand, aggregated sample plate of semiconductor nanoparticles effectively

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2010年度	9,500,000	2,850,000	12,350,000
2011年度	2,700,000	810,000	3,510,000
年度			
年度			
総計	13,200,000	4,260,000	18,460,000

## 研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ナノ・マイクロ科学 ナノ材料・ナノバイオサイエンス

キーワード：質量分析、MALDI、SALDI、ナノ構造、ナノ粒子、エッチング、脱離、レーザー

## 1. 研究開始当初の背景

レーザー脱離イオン化法による質譜分析 (LDI-MS) は、試料基板に塗布された有機化合物試料にレーザーを照射し、急速加熱させ

ることによって、試料を脱離・イオン化させて質量分析を行う方法である。そのなかでも、安息香酸系の化合物をマトリクスとして共存させた状態で紫外レーザーを照射し、その

レーザーエネルギーをマトリクス分子が効率よく熱に代えて、また、同時に試料にプロトンを提供することを可能とする方法がマトリクス支援レーザー脱離イオン化 (MALDI) 法である。本手法は、たんぱく質などの高分子量の有機化合物などを分解せずにイオン化 (ソフトイオン化という) する法王として注目される。しかしながら、測定時に有機マトリクスが必ず共存する必要があるため、このマトリクス分子がイオン化し、そのピークが試料のピークを妨害するという問題があり、低分子量化合物の分析に MALDI 法が適さないとされてきた。特に、薬物・毒物、環境汚染物質、材料に含まれる可塑剤などの分子量はほぼ 1000 以下であるため、こうした重要な化合物の分析に MALDI 法を適用できないことはこうした物質の分析が頻繁に行われていることを考えると乗り越えるべき課題である。また、MALDI 法では、レーザーの照射位置によって感度が異なる (スイートスポット) 現象があることが知られており、定量性に欠けている。そのため、有機マトリクスを用いない LDI-MS 法の開発が強く望まれる。

一方、電解エッチング法で作製されるポーラスシリコンにレーザー光を当てると有機マトリクスが無くとも試料がイオン化されることが見出された。これを DIOS 法という。

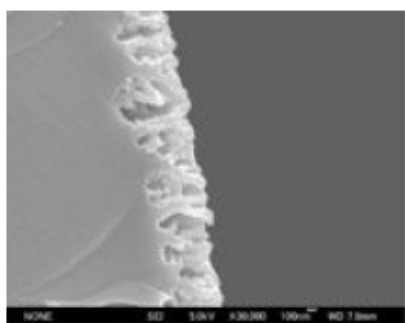


図 1 DIOS 基板の断面 SEM 像。

ナノ粒子を試料基板上に塗布し、ナノレベルの凹凸を持つ表面を作製した。この基板の表面に直接サンプルを塗布し、試料をイオン化する。この手法は MALDI 法に対し、表面支援レーザー脱離イオン化 (SALDI) 法と呼ばれる。しかし、シリコンでは、ポーラスとなると容易に酸化されてしまう。そこで、DIOS に代えた基板の開発が国内外ではじまっている。それに対し、我々はこれまで金属および金属半導体のナノ粒子を用いた SALDI-MS の検討を行ってきた。特に制御された構造を持つナノ粒子を試料基板の上に塗布し、ナノレベルの凹凸をもつ表面を作製した。これらは DIOS と比べても高い SALDI 特性を示している。その中でも、ナノレベルの凹凸をもつ白金ナノ構造体が非常に高効率にたんぱく質、ペプチド、高分子、低分子のすべてをイ

オン化できることを見出した。

## 2. 研究の目的

1 に述べたような背景のもと、本研究では、新しいナノ構造制御法による LDI-MS 用基板の開発を行うこととした。レーザー脱離イオン化質量分析 (LDI-MS) 法に用いる、ナノポーラスな表面加工基板もしくは、ナノ粒子の集積によるナノ表面加工基板を作製し、表面支援 LDI-MS (SALDI-MS) に用い、効率のよい有機化合物の脱離・イオン化を可能とし、質量分析法をより簡便に効率よく行う手法を開拓する。こうして得られる表面はナノフラクタルであり、物質の脱離が容易となることが期待される。

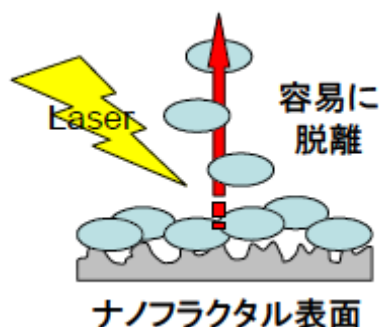


図 2 加工された表面の模式図。ナノフラクタル形状となることが理想である。

用いる素材 (元素、結晶構造) はもちろんのことその形状についても作製法のチューニングを通じて検証を行うこととする。また、今回、レーザー照射による対象化合物の脱離とイオン化を分けて考察できるようにし、その結果を質量分析にフィードバックする。

本研究で質量分析で目的とするサンプルは、分子量が 1000 程度のペプチドと、それ以下の低分子量をもつ生体関連化合物、特に薬物・毒物を検出対象化合物として実験を行う。また、レーザー科学の観点から、これまで解明されていない有機物のレーザーによる脱離・イオン化のメカニズムについて解明を行う。

## 3. 研究の方法

まずは、337 nm の窒素レーザーを用いた MALDI-MS 装置を用いて試料基板に本研究で作製するナノ構造基板を用いて SALDI-MS 特性を検証した。

本研究で合成するナノ構造表面には、貴金属と遷移金属の合金箔を原料として用いた Dealloy 法を利用する。具体的には、まず 2 種類の金属粒を溶解炉を用いて共融解させたのち、熱処理して均一化した後、圧延して板とする。これを用い、電気化学的操作によって緋な金属のみをイオン化させる「脱成分

腐食 (Dealloy)」を行う。この結果、貴金属のみが板に残り、その表面がポーラスとなる。このようにして金属基板に直接作製したナノ構造表面を質量分析用試料基板として用いる。また、基板作製方法のチューニングによって、得られるナノポーラス基板の構造変化を確認する。

さらに、金属イオンからの還元や、加熱による金属酸化物、化合物半導体、金属ナノ粒子・ナノ構造体を用いてそれを塗布した試料基板を作製して SALDI-MS 特性を検証する。そして、その効率の良い脱離・イオン化システムの選択を行う。ナノ粒子、ナノ構造体の塗布によっても表面にフラクタル様の構造体を形成することは可能である。

また、これらのよい SALDI-MS システムの検証を終えたのち、脱離～イオン化に向けた現象を検証するためのシステムを構築し、脱離・イオン化のメカニズム解明に貢献する。

#### 4. 研究成果

Dealloy 法によるナノポーラス基板形成について銅-白金系合金基板からの形成を試みた。1M 硫酸水溶液中に、銅-白金系合金基板を浸漬し、電気化学的に銅をエッチングして取り出し、白金のみを基板に残す方法でナノポーラス基板の作製に挑戦した。こうしたナノポーラス基板は質量分析用途のみならず、触媒用途としても大きく期待できる。

銅-白金合金板を作製し、エッチングしたところ、合金板の組成によって得られる構造が異なることが示された。このとき、数 nm 以下の粒子径をもつ白金ナノ粒子の集合体が形成され、結果としてこれがナノポアになることが分かった。一方で、特に、白金の含有量が多い場合には、Dealloy エッチングしても、ナノポアが形成されない場合があることを見出された。このポアレス白金ナノ構造の特性については、今後検証したいと考えている。

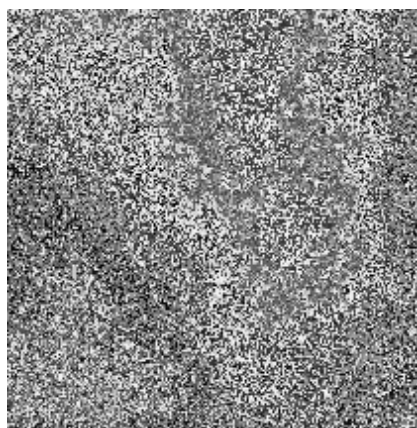


図 3 Dealloy 法で作製したナノポア白金の TEM 像。

図 3 に示されたようなナノポア白金構造を表面にもつ試料基板を用い SALDI-MS 測定を行った。ポーラスアルミナを用い、スパッタリングしてえた白金表面などとは異なり、SALDI として、対象化合物の脱離・イオン化が難しいことが分かった。原因としては、このとき Dealloy 法で得られた基板では、表面のごく薄い層がナノポアを形成しているものの、全体が金属板となっていること、その白金板と粒子が直接相互作用をもって存在していることから、熱の拡散が大きいと考えられ、実際に十分に化合物が加熱されず脱離に至らなかったと考察できる。よって基板を熱拡散の弱いものとして作製したほうがよいものが得られる可能性が高い。

そこで、これまで得られた SALDI-MS システムを凌駕するシステムを構築するため、白金ナノ粒子、半導体ナノ粒子について検討することとした。

まず、ナノ粒子の高温挙動について明らかとした。レーザー照射による高温でのナノ粒子・ナノ構造体の変形が SALDI-MS に影響を与えるという議論のもと、電子顕微鏡内でナノ粒子を加熱し、その影響について調査した。白金ナノ粒子は高温まで安定であるが、融点が数百度で生じることが見出された。これは融点降下の影響があるものと思われる。特に、加熱によって、異方性のある粒子はどうしても球状へと変化して行ってしまう、加熱効率が下がる可能性も見えてきている。しかし、それでも、白金は熱伝導率が低く、構造制御も容易であることから今後も SALDI-MS 用の金属として期待できることは間違いない。

一方、半導体としては、化合物半導体と金属酸化物半導体を用いて検討することとした。特に、大きさによって色をよく変化させる化合物半導体のシステムは、レーザー波長に対応した SALDI-MS 基板を構築できる可能性があり、非常に興味深い。そこで、本研究では、GaP ナノ粒子を用いて SALDI-MS 検証を行った。

GaP ナノ粒子は金や銀のように可視光に大きな吸収バンドを持つ。そのため、紫外レーザー (窒素レーザー 337 nm、YAG の 3 倍波 355 nm) から、可視光レーザー (特に YAG の 2 倍波 532 nm) に適している可能性が高い。これらのレーザーは比較的安価であり、SALDI-MS に適していると期待される。ガス中蒸発法で作製した GaP ナノ粒子は、サブミクロンから数十 nm の大きさのものが得られ、色が異なる。比較的大きな GaP ナノ粒子を用いた場合、図 4 に示す様に、非常に高いソフトイオン化能を示すことを見出された。

SALDI-MS はこれまで、低分子量化合物に適しているとはされてきたが、ソフトイオン化能については MALDI に比べて劣ることが問題となっていた。しかし、GaP ナノ粒子は

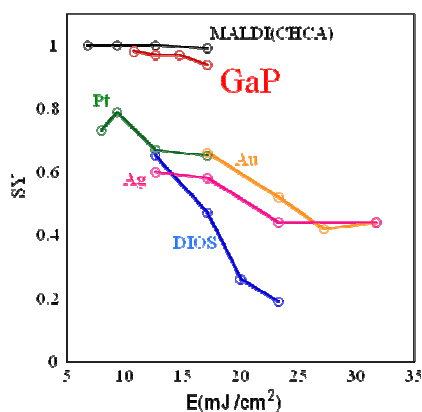


図4 MALDI、SALDIでのソフトイオン化率。

MALDI 並みのソフトイオン化能を示しており、SALDI-MSの欠点を大きく克服する材料となることが期待される。

さらに、金属酸化物半導体の一部のナノ粒子は、これまでMALDI法や他のSALDI法では脱離・イオン化できなかった化合物の脱離・イオン化に成功している。今後は、国民の安心・安全にも期待できる。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計18件)

①辻剛志、安友政登、水城健志、辻正治、川崎英也、米澤徹、真船文隆、「液中レーザーアブレーションを用いた表面支援レーザー脱離イオン化(SALDI)用基板の作成」、レーザー研究、**40**、111-116(2012)。

②H. Kawasaki, T. Yao, T. Suganuma, K. Okumura, Y. Iwaki, T. Yonezawa, T. Kikuchi, R. Arakawa, "Platinum nanoflowers on scratched silicon by a galvanic displacement for an effective SALDI substrate", Chem. Eur. J., **16**, 10832-10843 (2010)。

〔学会発表〕(計30件)

①丸屋一樹、成島隆、米澤徹、「Cu-Pt系合金からのナノポーラスPt粒子の作製」、日本金属学会2011秋期講演大会、2011年11月7日、沖縄コンベンションセンター

②米澤徹、成島隆、林真至、菅沼隆、川崎英也、荒川隆一、「GaPナノ粒子を用いるペプチドのLDI-MS」、第60回高分子討論会、2011年9月29日、岡山大学

③米澤徹、「ナノ粒子の形状と配列制御」、日本化学会第92春季年会(招待講演)、2012年3月26日、慶応大学(横浜)

〔図書〕(計2件)

米澤徹、「質量分析に用いるナノ粒子」、日本化学会編「金属、半導体ナノ粒子、クラスタの科学」、化学同人、印刷中。

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

米澤徹、高分子学会 日立化成賞 受賞、平成23年9月29日

ホームページ等

[www.eng.hokudai.ac.jp/labо/lims](http://www.eng.hokudai.ac.jp/labо/lims)

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

米澤 徹 (YONEZAWA TETSU)  
北海道大学 大学院工学研究院 教授  
研究者番号：90284538

##### (2)研究分担者

##### (3)連携研究者

藤井正明 (FUJII MASA AKI)  
東京工業大学 資源化学研究所 教授  
研究者番号：60181319

石内俊一 (ISHIUCHI SHUN-ICHI)  
東京工業大学 資源化学研究所 助教  
研究者番号：40338257

荒川隆一 (ARAKAWA RYUICHI)  
関西大学 化学生命工学部 教授  
研究者番号：00127177

川崎英也 (KAWASAKI HIDEYA)  
関西大学 化学生命工学部 准教授  
研究者番号：50322285