酸化銀の還元反応を利用した携帯型表面プラズモン共鳴ポリフェノールセンサー

満塩 勝

鹿児島大学 学術研究院 理工学域 工学系
〒890-0065 鹿児島市郡元 1-21-40
Tel: 099-285-8342

要旨

石英棒の側面に金属薄膜層を形成することで、表面プラズモン共鳴(SPR)現象を利用した濃度測定を行うことができる。申請者はこれまで石英棒の側面に金や銀の薄膜層を形成したものをセンサーとした小型 SPR センサーを開発してきた。そこで本研究では、ポリフェノールの持つ抗酸化作用により酸化銀が還元されることを利用して、携帯可能なセンサーを開発することを目的とした。

センサーの光導波路となる石英棒の側面部分に厚さ 45 nm の銀薄膜層を形成し、その表面を酸化することで酸化銀薄膜層を形成したセンサーを作製した。試料として 15 mg/100 mL のカテキン水溶液を用いた。開発したセンサーの応答の観測を行ったところ、従来のセンサーでは全く応答を示さなかったのに対して、本申請課題で開発したセンサーでは極めて大きな応答を示し、ポリフェノールの簡便かつ高感度測定に十分な性能を持つことが確認できた。

さらに市販のお茶を直接測定した場合も大きな応答を示し、さらに共存物であるカフェインやビタミン C の水溶液に対して全く応答を示さなかったことから、本センサーはお茶から直接カフェイン含有量を測定できることも示唆された。

1 緒言

特定保健用食品とは体の生理学的な機能などに影響を与える成分(保健効能成分)を含み、その摂取により特定の保健の目的が期待できる食品群である。健康増進法に定められた審査を受けてはじめて「トクホ」として食品のラベルへの表示が許可され[1)]、令和8年3月の時点で1029品目が登録されている。ポリフェノールはトクホ登録済みの食品として含有量を強調しているものも多く、現代において注目されている栄養素の一つである。

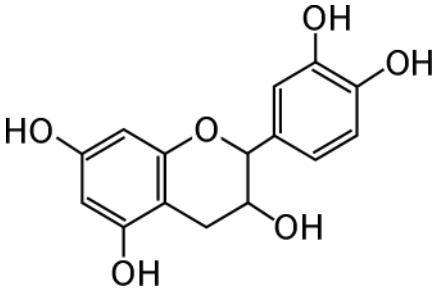


Fig. 1 Chemical structure of Epicatechin

ポリフェノールとは、化学構造中にベンゼン環に結合した水酸基を複数持つ化合物の総称であり、属する化合物は8,000種を越えると言われている[2)]。その代表的なものにフラボノイド骨格を持つカテキン類があり、Fig. 1はその中で緑茶に含まれるエピカテキンの化学式である。一般的なお茶には60～400 mg/100 mL程度含まれていると言われており、センサーを開発する場合はこれよりも十分に低い検出限界が必要となる。

ポリフェノール類の分析については文部科学省が定めた「日本食品標準成分表2015年版（七訂）分析マニュアル」[3)]の第七章に、緑茶類は酒石酸鉄吸光光度法、発酵茶類やコーヒーにはフォーリン・デニス法、チョコレート類やココアに対してはフォーリン・チオカルト法を用いた分析手順が記載されている。これらはいずれもポリフェノール類の持つ還元作用による試薬の呈色反応を吸光光度計や分光光度計によって測定する方法であるが、これらの装置は大型で高価であり、携帯することは不可能であることから、迅速簡便な分析には不向きである。

試料の濃度を迅速簡便に測定するための計測法として、表面プラズモン共鳴(Surface Plasmon Resonance; SPR)吸収を利用する方法がある。これは高屈折率媒体表面に金や銀などの金属薄膜層を形成し、高屈折率媒体の内表面から光を入射すると、金属薄膜と接触している物質の誘電率に対応した反射光が減衰する現象である。誘電率は混合物の濃度に依存するため、このセンサーは水溶液中の試料の濃度を非破壊で測定することを得意とするものである。申請者は石英棒やサファイア棒の側面に金や銀､アルミニウム薄膜層を形成した携帯も可能な小型SPRセンサーシステムを開発し、その応答特性やカフェインの選択的検出に関する研究を行ってきた[4)～6)]。中でもカフェインの検出では、金表面に酸化グラフェン層を構築することでカフェインが多層膜状の酸化グラフェン層の隙間に侵入することによる酸化グラフェンの誘電率変化を利用したものであり、センサーの検出限界を大幅に引き上げ、従来のSPRセンサーでは計測が困難な濃度域のカフェインの含有量の測定に成功している[5)]。

本研究室によるこれまでの基礎実験において、ポリフェノールの還元性は酸化銀を還元できることが分かっている。事前に行った予備実験では45 nm程度の酸化銀薄膜を金属状態の銀に元に戻せるほどの還元性はないこと、透明化した酸化銀をポリフェノールで還元しても目視で変化がみられないことから、ポリフェノールが還元できる

のは表面から数～十数 nm 程度と推測している。このことは、金や銀表面に数～数十 nm の銀酸化物層を形成することで還元を利用した SPR 現象による検出が可能であることを示唆している。

そこで本研究では、銀表面に酸化銀薄膜層を形成し、ポリフェノールがこれを還元して金属状態の銀が生成することを利用してこれを SPR センサーで検出し、ポリフェノールの超高感度測定を可能にする携帯型センサーシステムの基礎を構築することを目的とした。

2 実験および理論

2．1 センサーの構成と応答理論

Fig. 2 に石英棒の側面に銀薄膜層を形成したセンサーの(a)全体と(b)断面の模式図を示す。センサーとして、直径 2 mm、長さ 150 mm の石英棒の側面の中央部の 100 mm の長さで半周面上に 45 nm の厚さの銀薄膜層を高真空蒸着装置で作製したものを用いた。光源には波長 650 nm の赤色 LED(Rohm, SLA-560LT-3F)を用い、石英棒を透過してきた光は強度をフォトダイオード(浜松ホトニクス, s2386-44k)と抵抗器で電圧に変換されてデジタルマルチメーター（YOKOGAWA, 7555）で測定された。電源として、直流安定化電源(ADVANTEST, R6146)を用いた。なお、電源として市販の乾電池を用いることも可能である。銀薄膜層が形成されているセンサー部分は試料流入・排出用のテフロンチューブと共にガラス管内に固定され、フローセルとして測定に用いた。

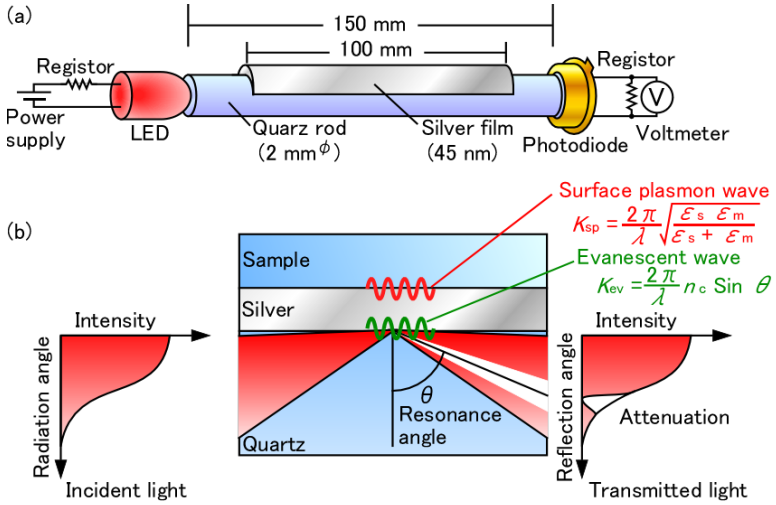


Fig. 2 Schematic representation of the sensing system (a) and cross-sectional view (b)

入射光が石英棒の内表面で全反射したとき、その反射点にエバネッセント(Evanescent; EV)波が発生する。これは Z 軸方向に向かって減衰して行く性質を持っている。また、銀表面には金属とこれに接触している試料の誘電率および入射光の波長で波数が決まる表面プラズモン(Surface plasmon; SP)波が存在しており、SP 波と EV 波の波数が一致すると相互作用を起こし、銀薄膜と接触している試料の屈折率に対

応した入射角の光が吸収される。このときの石英棒を透過してくる光の強度を測ることで、試料の屈折率を知ることができる。一般的な SPR センサーは入射光にレーザーを用い、ゴニオメーターなどで角度を走査したり、ライン CCD を用いて共鳴角を測定したりするが、この手法ではこういった精密機器が不要になり、小型で携帯性が高いセンサーを構築することができる。

２．２ ポリフェノール検出理論

ポリフェノールの抗酸化作用については、属する物質が多いため明確な化学反応についての論述が非常に少ない。本研究でポリフェノールの代表として用いたカテキンは、Fig. 1 に示すように *o*-ジフェノールを持っている。これが Fig. 3 に示すような自己酸化の反応機構 [7]により、はじめに水中の酸素によって酸化されてラジカルアニオンとなり、強い還元作用を示す。SPR センサー上に酸化銀が存在すると、この酸化銀が酸素を奪われて金属銀に還元され、SPR 応答に強い影響を与えると考えている。

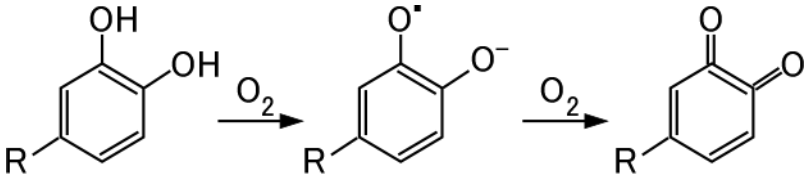


Fig. 3 Autoxidation of o-diphenols

３ 結果と考察

３．１ 銀蒸着センサーによる応答

一般的に SPR センサーでは金よりも銀の方が高感度である。これは 632.8 nm における誘電率が金の-10.92+1.49i に対して銀は-14.67+0.72i[8]と、実部の絶対値が虚部に対して大きく、虚部が 0 に近いという SPR 現象の利用に有利な光学定数を持っているためである。そこで、銀を 45 nm の厚さで形成したセンサーによるカテキン水溶液に対する応答を観測した。カテキンの濃度は 15 mg/100 mL と一般的なお茶に含まれる量の 1/4 以下とした。これは実用的なセンサーの評価として適した濃度である。なお、このカテキン水溶液の屈折率は水と同じであり、金蒸着センサーでの測定は不可能であった。

Fig. 4 に銀蒸着センサーの応答を示す。測定開始から 300 秒間は蒸留水(0 %)、その後 900 秒までカテキン水溶液、最後に再び蒸留水に戻したときの応答である。カテキンを導入してから 300 秒程度で応答が安定し始め、600 秒時点で完全に一定になった。応答は蒸留水測定時の光量で規格化しており、0%測定時から 0.19%の透過光強度の減少がみられた。この減少量は 0%測定中の応答の変化量よりも十分に大きいものであり、銀のみでもカテキンに応答を示すことが分かった。ただし、還元された銀はすぐに酸化銀には戻らないため、このセンサーは使い捨てか、回収・再生を前提として設計することが望ましいことも分かった。

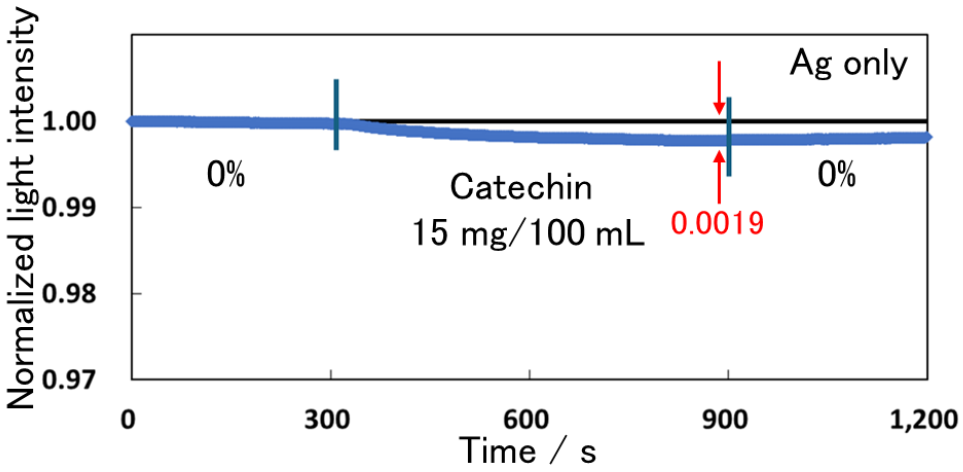


Fig. 4 Typical sensor response of the Ag sensor
for the catechin aqueous solution

３．２ 酸素グロー放電酸化を行った銀蒸着センサーによる応答

銀のみでも応答が得られることは分かったが、その感度は期待していたよりも小さかった。これは自然酸化物が少ないためであると考え、45 nm の銀を蒸着後、真空槽に酸素を導入し、10 Pa、5 mA で 60 秒間グロー放電酸化を行ったセンサーによる測定を行った。センサーの応答を Fig. 5 に示す。応答が安定になるまで時間を要したため、カテキンの測定時間を長く取った。カテキン水溶液導入後直ちに応答が変化し始め、1,800 秒でほぼ安定した。カテキン測定前後の透過光強度の変化は 2.67%と大幅に増大し、ある程度までは酸化物層の厚さの増加が感度に影響を与えることが分かった。また、カテキン測定後僅かに応答が戻りつつあるのは、還元された銀が水中で酸化物または水酸化物に変わっていくためであると考えられる。

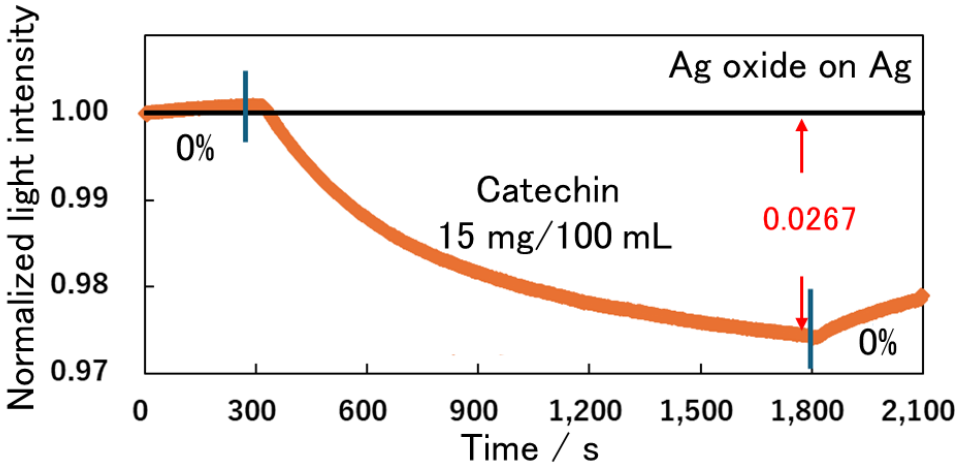


Fig. 5 Typical sensor response of the Ag oxide/Ag sensor
for the catechin aqueous solution

SPR 応答にはある程度の厚さの金属状態の銀が必要である。したがって、銀を酸化させて作る酸化物層の厚さには理論的に上限が存在する。そこでグロー放電時に放電時間を変化させて酸化物の存在量を変えた場合の応答について観測を行った。Fig. 6 にはグロー放電時間を 30、60、120 秒に変化させたセンサーによる 15 mg/mL カテキン水溶液測定時の応答の変化量である。それぞれ 3 本のセンサーで測定を行った平均であり、エラーバーは±標準偏差とした。誤差の大きさは酸化時のムラなどが考えられるが、60 秒のグロー放電時間が最も感度が高く、その前後で応答が小さくなった。酸化時間が短い場合は酸化物が少なく、多い場合は銀の酸化が進みすぎて SPR 応答が得られなくなるためであり、本研究室の蒸着装置では 45 nm の厚さの銀に対して 60 秒の酸化時間が最適であることが明らかになった。

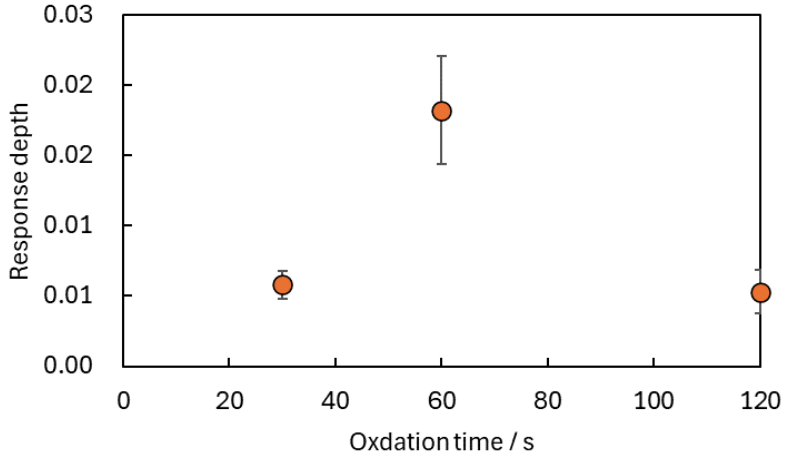


Fig. 6 Response depth of the Ag deposited sensor with various oxidation times for the catechin aqueous solutions

３．３ カテキンによる銀還元の確認

これまでの実験はカテキンによる酸化銀の還元を仮定して行っているが、それを確かめるために、X 線光電子分光装置(X-ray Photoelectron Spectroscopy; XPS)による観察を行った。試料は、グロー放電だと酸化膜が薄すぎて XPS による観測が難しかったため、表面積と存在量を増やすために湿式で作製した酸化銀微粒子を測定に用いた。

はじめに硝酸銀水溶液約 0.006 mol/L に 25%アンモニア水溶液を少量添加してジアンミン銀(I)イオン水溶液を生成させ、これに 12 mol/L の水酸化ナトリウム水溶液を添加することで酸化銀分散液を作製した。この溶液に金を蒸着した顕微鏡用カバーガラスを浸漬後乾燥させ、酸化銀で被覆された金薄膜試料とした。さらにこの試料を 15 mg/100 mL のカテキン水溶液に浸漬した。試料はそれぞれの段階、つまり金のみ、酸化銀吸着、酸化銀吸着後カテキン水溶液浸漬の 3 つを作製し、Ag 3d 線のピークの位置からその状態を推測した。帯電補正は Au 4f (84.0 eV)で行い、ピーク位置は XPS International 社の Handbooks of Monochromatic XPS Spectra と比較し検討した。

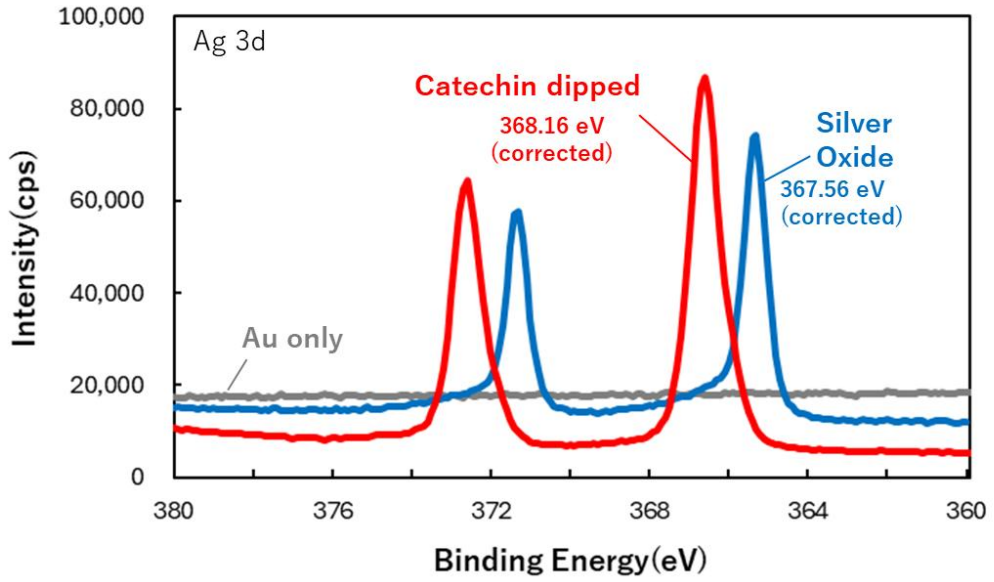


Fig. 7 XPS spectra of Au/Ag, Au/Ag_2O, and Au/reduced Ag

酸化銀は 367.56 eV にピークがみられているが、カテキン水溶液に浸漬したものは 368.16 eV と、酸化銀のものよりも高エネルギー側に位置していた。これに対して、文献では酸化銀が 367.3 eV、銀が 368.24 eV であり、帯電補正や測定条件に由来すると思われる僅かなズレはあるが文献とほぼ同じピーク位置であることが分かり、カテキン浸漬後に銀が明らかに還元され、金属の銀に戻ることが明らかになった。

３．４ 市販のお茶に含まれるカテキンの測定

最後に市販のお茶に含まれるカテキンについて測定を試みた。サンプルとして日本コカ・コーラ社の綾鷹を用いた。Fig. 8 に測定の結果を示す。センサーは新規に準備したものであり、試料をそのままセンサーに流入させ、測定を行った。

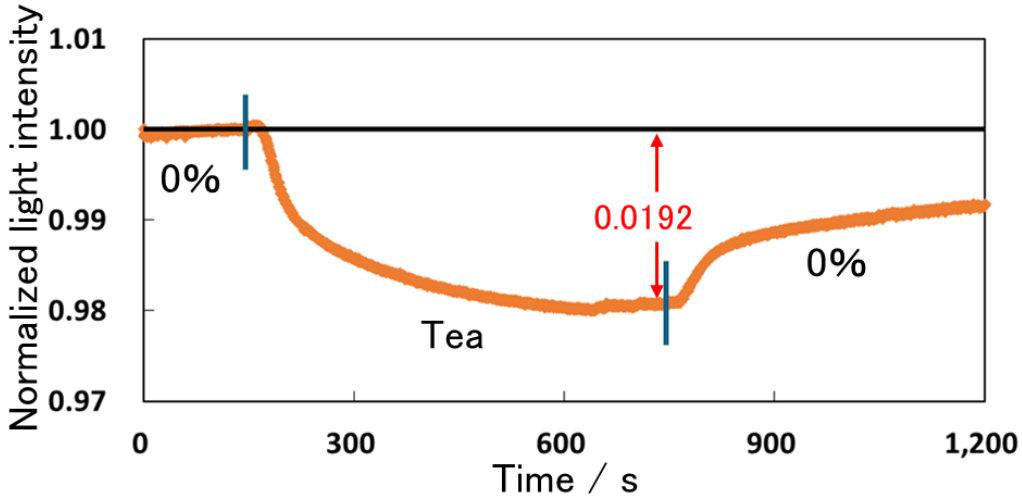


Fig. 8 Catechin measurements in the commercially available tea

この測定においては、新調したセンサーを用いてお茶成分の中でセンサーが応答する可能性があるカフェインとビタミン C についても測定を行い、これらについては応答を示さないことも確認している。綾鷹に含まれるカテキン含有量は北海道立消費者センターの商品テスト[9]によると 38 mg/100 mL とされている。落ち込みの量はセンサーの基礎評価に用いた 15 mg/100 mL の場合よりもやや小さく、定性的にカテキンの存在を検知していることは間違いないが、定量性は乏しかった。

考えられる原因として、酸素グロー放電による酸化銀作製は電極との距離に敏感であることと、酸化銀による応答が敏感過ぎてダイナミックレンジが狭く、応答が飽和したことが考えられる。この点については、今後酸化銀の生成量の増加、緻密な自然酸化物を作るアルミニウムなどの軽金属の使用など、さらなる研究を行う予定である。

5 結論

本研究では、銀を用いた石英棒 SPR センサーの表面に酸化物層を形成し、カテキンの微量検出が可能なセンサーの開発を行った。カテキンの化学構造上に存在するフェノール性水酸基による酸化銀の還元で生成した銀による SPR 応答利用することで、市販のお茶の半分以下という極めて低濃度のカテキンを検出することに成功した。

酸化銀がカフェインで還元されるという仮説の証明については XPS を用い、カテキン水溶液浸漬前後の酸化銀/銀の状態を観測した結果、酸化銀が還元されていることが確かめられた。また、本研究室の蒸着装置の条件では、10 Pa、5 mA、60 秒のグロー放電条件が最適であり、最も大きな感度を得ることができた。

市販のお茶を用いた実験では、応答が飽和しており、完全な定量性は得られなかったが、直接測定で測定が可能であることを確かめることができた。

これらの研究成果より、酸化銀被覆銀蒸着石英棒 SPR センサーによる携帯可能で簡便に使えるセンサーシステムの構築に関する知見を得ることができた。

6 謝辞

本研究課題を遂行するにあたり、令和 7 年度サンケイ科学振興財団研究助成金の支援を受けて遂行されたことを付記し、ここに謝意を表します.

7 引用文献

1) 消費者庁「特定保健用食品について」, https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/foods_for_specified_health_uses (最終アクセス 2026/3/9).
2) 岸本 良美, 日本家政学会誌, **76**, 439 (2025).
3) 文部科学省「日本食品標準成分表 2015 年版（七訂）分析マニュアル」 第 7 章, https://www.mext.go.jp/a_menu/syokuhinseibun/1368931.htm (最終アクセス 2026/3/4).
4) M. Mitsushio, A. Miyahara, T. Yoshidome, S. Nakatake, *Anal. Sci.*, **39**, 601 (2023).
5) 満塩 勝, 吉留 俊史, 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **73**, 23 (2024).
6) 満塩 勝, 吉留 俊史, 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **74**, 373 (2025).
7) X. Zhou, A. Lqbal, J. Li, C. Liu, A. Murtaza, X. Xu, S. Pan, and W. Hu, *Antioxidants*, **10**, 1809 (2021).
8) M. Mitsushio, K. Miyashita, M. Higo, *Sens. Actuators A*, **125**, 296 (2006).
9) 北海道立消費生活センター 「2020 年 11 月掲載 緑茶のカテキン類含有量」, https://www.do-syouhi-c.jp/top_test.html (最終アクセス 2026/3/9)

Surface plasmon resonance polyphenol sensor using silver oxide reduction reaction

Masaru Mitsushio

Research Field in Engineering, Science and Engineering Area,
Kagoshima University,
1-21-40, Korimoto, Kagoshima, 890-0065
Tel 099-285-8342

Abstract

Polyphenols are known to have antioxidant properties, which are due to the reduction action of multiple phenolic hydroxyl groups present in their molecular structure. Current mainstream detection methods also utilize this property. In this study, we aimed to develop a simpler and more sensitive method for detecting polyphenols such as catechins by utilizing this property.

The surface plasmon resonance (SPR) is a phenomenon in which light at an incident angle corresponding to the refractive index of the sample in contact with a thin metal film is attenuated. The SPR sensor can be incorporated into systems due to their small size and simple optical system, and are expected to become popular as low-cost, easy-to-use sensor.

In this study, we discovered that forming a thin silver oxide layer on a metal surface for SPR and reducing it with polyphenols to produce metallic silver results in an extremely large SPR response, and utilized this phenomenon to develop an ultrasensitive sensor capable of detecting polyphenols.

A 45-nm-thick silver thin film was formed on the side of a quartz rod, which serves as the sensor's optical waveguide, and the surface was then oxidized to form a silver oxide thin film layer. A 15 mg/100 mL aqueous solution, which is less than half the concentration of catechins found in typical tea, was used as a sample, and the sensor's response was observed, showing an extremely large response. Furthermore, we directly measured commercially available tea and successfully obtained a selective response to catechins without the influence of coexisting substances, demonstrating that this sensor can measure the caffeine content directly from tea.