

意見書

令和7年12月20日

札幌地方裁判所民事第3部3係 御中

〒990-8560  
山形市小白川町1-4-12  
山形大学理学部

天羽 優子

第1 鑑定事項

1 被告第4準備書面（令和7年10月29日付）第1の1及び3の科学的説明、および専門家による乙21号証の内容、具体的には以下に列挙した記述が妥当かどうかについて鑑定する。

(1) 第1 1(1)ア (ア)

「しかし、大気中の赤錆は単純に  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  で表される。また、配管内は水が満たされているので赤錆は水和しており、化学式は  $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$  になる。そして、なるべく単純化した形で化学式を表すため、全体を2で割ると  $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O} / 2 = \text{FeO}(\text{OH})$  になる。」

(2) 第1 1(1)ア (イ)

「しかし、原告が主張するように、水和電子は、水と高エネルギーの放射線の作用で生じるものに限らない。  
この点、紫外線の作用でも水和電子が生じることが観測されている（乙18）」

(3) 第1 1(1)イ

「被告において、パイプテクター設置により実際に赤錆防止効果が得られていることは、原告が上記主張する

① 内視鏡調査

内視鏡での閉塞率の縮小を確認することに限るものではない。被告において、

② 採水調査

配管中の水を採水し、設置前後で水中の赤錆による鉄分値の減少を確認すること（乙1・5~9、13~16、18~21頁、乙16、乙21）

③ フィルター調査

蛇口にフィルターを取り付け、設置前後でフィルターに捕捉され

る赤錆の鉄分値の減少を確認すること（乙15）

④ 黒錆質量調査

配管を抜管し設置前後で配管内の赤錆に含まれる黒錆量の増加を確認すること（乙1・17頁、乙11、乙13、乙14、乙22）などを行い、実際に赤錆防止効果が得られていることを確認している。」

(4) 第1 1(2)ア

「しかし、被告の従前の主張の通り、パイプテクターは、剥離放電させるほどの水の運動（流れ）があり、こうした水の運動（流れ）と接触する錆の部分しか防錆効果は期待できない。

そして、乙17において内視鏡により調査した閉塞率のものは、配管の内側に沿うよう配管自体に付着（密着）した錆によるものである。

このため、配管内の水の運動（流れ）が、配管に沿うよう配管自体に付着（密着）した錆に接触することで、防錆効果が期待できる。

これに対して、原告が行ったとする第1の実験（鉄釘）、ないし第2の実験（鋼管（ニップル））において、鉄釘、ないし鋼管（ニップル）は配管内に配管とは別個の異物として留置されたものであり、配管に沿うよう配管自体に付着（密着）したものとは言えない。

このため、水道配管内に鉄釘（第1の実験）、ないし鋼管（ニップル）（第2の実験）を留置することで水の運動（流れ）を妨げることになり、鉄釘、ないし鋼管（ニップル）自体に接する水流は、水流の速度が低下し一旦水が止まる状態となって防錆効果が発揮されないものと考えられる。」

(5) 第1 3(1)

「なお、原告は、「核磁気共鳴を起こすのは奇数の原子番号の物質だけではなく偶数の電子番号をもつ原子核でも核磁気共鳴を起こすものはあり、奇数番号に限られているかのような説明は誤りである。」と主張する。

しかし、核磁気共鳴を起こすのは、原則として奇数の原子番号の物質であり、偶数の電子番号の物質で核磁気共鳴を起こすものは例外である。

すなわち、核磁気共鳴(NMR)現象は、陽子数・中性子数が偶数の核ではNMR現象は起きない。

そして、原子番号が偶数の炭素では98.894%、酸素では99.962%の核が陽子数と中性子数が偶数なので、原則としてNMR現象は起きない。

しかし、例外として、原子番号が偶数である炭素の1.106%、酸素の0.038%は核の陽子が偶数であるが、中性子が1つ多くて奇数のために、理論的には $^{13}\text{C}$ 、 $^{17}\text{O}$ の核にはNMR現象が生じる（乙19、乙20）。」

(6) 乙21号証

科学者が書いたものであるので、科学の立場から内容を検討する。

## 2 鑑定結果

### (1) 第1 1(1)ア (ア) について

資料1に、「材料と環境」誌57巻(2008)年66-69ページに掲載された「鉄さびの形成過程と構造変化」という報文を示す。水溶液中での鉄さびの形成は、この資料の「図1 水溶液中で形成する核種の鉄系化合物の反応経路」に示したようなものである(赤枠は筆者による)。これらの化合物のうちどれが多くどれが少なくなるかは錆ができる環境によって異なる。FeO(OH)も1種類ではなく、構造の異なる $\alpha$ - (ゲーサイト)、 $\beta$ - (アカゲナイト)、 $\gamma$ - (レピドクロサイト)、 $\delta$ - (フェロキシナイト)の4種類が存在する。反応経路を制御できない以上、錆はこの図に示した化合物の混合物であり、被告が主張するような、単純化した化学式で表せば済むものではない。

### (2) 第1 1(1)ア (イ)

乙18号証には、水に紫外線を照射したとの記述がある。しかし、乙18号証の紫外線は、普段の生活で(主に晴れた日の太陽光によって)影響を受ける紫外線とは性質がかなり異なるものである。

乙18号証のもとになった論文を資料2-1に示す。紫外線の出し方については資料2-1の2ページに書かれている。該当する箇所にマーカーで色をつけ、マーカー部分を訳したものを資料2-2に添付する。

実験に用いた光源は800 nm(赤外線のうち波長が短い方、赤外線なので目に見えない)の波長のパルス光を放射するレーザーである。パルスの幅は80 fs =  $80 \times 10^{-12}$ 秒で、百億分の1秒よりも短い時間に光のエネルギーを集中させてくり返し発振するレーザー光であるために、ホウ酸バリウム結晶に当たると、波長が半分の長さの400 nm(青色)の光が出てくる。これを第二高調波、という。第二高調波が生じるのは、パルスレーザーに特有の現象で、非線形光学で取り扱う現象の一つである。パルス発振していないレーザーの光をホウ酸バリウム結晶に当てても波長は元のままである。

著者たちは、紫外線を作るために、ホウ酸バリウム結晶を用いて波長を半分にした400 nmの光と元の波長の光を混合して、異なった波長の光を発生させることで、波長267 nmの紫外線を作っている。結晶に波長の違う2種類の光をあてて、元とは異なった波長の光を発生させることができるのも、パルスレーザーに特有の性質で非線形光学の現象である。このようにして発生させた紫外線もまた、パルスレーザー光となっている。

さらに、水のイオン化をする時には、「2光子イオン化」という現象を用いている。これは光の粒子(光子)が2個同時に吸収される(これをコヒーレント2光子吸収、という)ことで、光子2個分のエネルギーを一度にまとめて物質が受け取ってイオン化するという現象である。この現象も、パルスレーザーを用いた時にしか起こらない現象である。

ここで少し計算を試みる。水素原子のイオン化エネルギーは13.6 eV、水素

分子のイオン化エネルギーは 15.4 eV である。eV というのは電子・ボルトと読み、1 V の電位差を電子が横切る時に得たり失ったりするエネルギーの大きさで、eV 単位で表したエネルギーに  $1.6 \times 10^{-19}$  を掛けると J (ジュール) 単位で表したエネルギーになる。J で表したイオン化エネルギーは水素原子、水素分子それぞれ  $2.18 \times 10^{-18}$  J、 $2.46 \times 10^{-18}$  J である。被告の主張する「水和電子」を生じさせるには、まずは水分子をイオン化して電子を 1 つ引き剥がす必要がある。そのために必要なエネルギーの目安が大体この程度ということになる。

まず、論文の実験で使われた波長 267 nm の紫外線の光子 1 個のエネルギーを求める。波長と振動数を掛けたものが常に一定の値  $2.99 \times 10^8$  m/s (光速) になる、という関係があるので、振動数は  $(2.99 \times 10^8) \div (267 \times 10^{-9}) \approx 1.12 \times 10^{15}$  Hz となる。光のエネルギーは振動数にプランク定数  $6.62 \times 10^{-34}$  m<sup>2</sup>kg/s を掛けたものになるので、 $7.4 \times 10^{-19}$  J となる。このエネルギーの光子を 2 個同時に吸収してイオン化しているので、資料 2 の(1)のような反応で水分子をイオン化するのに必要なエネルギーは光子 2 個分の  $1.5 \times 10^{-18}$  J となる。水分子になると、単独の水素原子や水素分子の時よりは少ないエネルギーでイオン化が起きているが、必要なエネルギーの桁数は変わっていない。

なお、NMR パイプテクターはパルスレーザーを水道管内に照射する装置ではないので、水和電子は発生しないし、普通の紫外線も水道管の内部には存在しないため、そもそも乙 18 号証はパイプテクターとは何の関係もない。

### (3) 第 1 1(1)イ

大量の検査結果を出しているが意味がないということを手短かにまとめておく。

#### ① 内視鏡調査

光ファイバーのカメラの映像が中心からずれるに従って歪む上に、カメラを毎回同じ場所に置くための器具を用意しておらず、多数の写真をとってその中で設置前に撮影したものに一番近い写真を選んでおり、さらに手作業で錆と錆でない部分の境界を決めている。この方法だと、数ポイント程度の違いは簡単に出すことができる。

#### ② 採水調査

全鉄の測定を行った場合、錆のかけらが試料中に混じった場合は鉄の量が多く出ることになる。混ぜるかけらの量をコントロールすれば、全鉄を多く見せたり少なく見せたりすることさえも可能である。採水方法によって結果がばらつくのは精度が悪いので、全鉄ではなく鉄イオンを測定する方法に変えた方がよいし、イオンを測定することにしても、錆が酷ければ鉄イオン濃度が上がってくるので、錆の評価は可能なはずである。

#### ③ フィルター調査

一定時間多めに水を流すと、剥がれやすくなっていた錆が剥がれてフィルターに引っかかることが予想される。パイプテクターを付けた後で同じことをして

フィルターに何も引っかからなかったとしても、剥がれかけていた錆が全て剥がれてしまった後であるためにフィルターに錆が引っかからないだけなのか、パイプテクターの効果なのかの区別がつかない。設置前検査で配管の状況を変えてしまうような測定方法を用いると正しい結果が得られない。もしこの方法を使うのであれば、設置前に一定期間ごとに複数回フィルター調査を実行し、毎回同程度の錆が観測されることを確認した後で、設置後も同じ期間ごとにフィルター調査を実行する必要がある。この方法は標準的な検査ではないために、何日おきに流速はどれだけ、のような検査の規格がそもそも無い。

#### ④ 黒錆質量調査

黒錆と赤錆は錆の中で不均一に混在しているので、採取する場所によって比率が異なる。また、一旦採取してしまうとその場所の錆を壊してしまうことになるので、同じ場所で設置前後の変化を見ることはできなくなる。場所による違いの影響が出ないように採取方法をとる必要があるが、場所による違いによるばらつきを減らすための方法についての情報が全く無い。

全体を通してみると、検査の前の試料採取の手順や方法が標準化されていないか、設置前検査で水道管の状況を変えてしまうことが原因で正しい比較ができないような検査方法が用いられている。外部の検査機関に分析を依頼してその分析結果が正確であったとしても、その前の試料採取にパイプテクター以外の要因が入りうる方法をとっているため、分析結果があてにならないのである。

#### (4) 第1 1(2)ア

資料3は、熊本大学機械工学科の講義資料で「管内流れの基礎と流体損失摩擦」をテーマとしたものである。流体力学の教えるところによれば、管内の流れの速度分布はこの2ページ目の図の通りであり（赤枠は筆者による）、乱流の場合も層流の場合も、管の壁面では摩擦によって速度が遅くなる領域ができる。管の断面に描かれた右向き矢印が、その場所での速度の大きさを示している。マクロに見た場合、表面での流速は0である。

一方、錆の変化を起こすような電子授受反応は、水溶液中の場合、表面から水分子3つ分程度まで、反応する相手（「水和電子」でも他の分子でも）が近づいた時に起きる。

被告は、管表面の流速が早いというイメージを持っているようだが実際は逆で、錆の変化を引き起こすような化学反応が起きる領域での流速はむしろ遅い。

また、水を乱流になるような速度で水道管内に流した程度では水がイオン化されて水和電子が出てくることは起きない。これを説明する。

被告は「剥離放電させるほどの水の運動（流れ）」が存在すると主張する。要するに、水のイオン化エネルギーを流れている水分子の運動エネルギーで賄える、と主張しているわけである。上で求めたように、資料2(1)式のイオン化を引

き起こすためのイオン化エネルギーは分子1個あたり  $1.5 \times 10^{-18}$  J である。高等学校の物理の教科書には、運動エネルギー  $E$  は、質量  $m$  kg の物体が速度  $v$  m/s で運動しているとき、 $E = (1/2) \times mv^2$  J になることが書かれている。これを使って、どの程度の水分子の速度が必要なのを見積もってみる。

水分子を1モルすなわち  $6.02 \times 10^{23}$  個集めてくると  $18 \text{ g} (= 18 \times 10^{-3} \text{ kg})$  になる。従って水分子1個の質量は  $3 \times 10^{-26}$  kg で、これが  $m$  である。運動エネルギーを表す関係式に代入すると、 $1.5 \times 10^{-18} \text{ J} = (1/2) \times 3 \times 10^{-26} \text{ kg} \times (v \text{ m/s})^2$  となる。ここから、 $(v \text{ m/s})^2 = 1 \times 10^8$  となるので、 $v = 1 \times 10^4 \text{ m/s} = 10000 \text{ m/s}$  つまり毎秒1万メートルの速度で水分子が流れている必要がある。ところで、水に高圧をかけてノズルから吹き出させて金属などを切断するウォータージェットという工作機械があって、ノズル先端の水の流速は速いもので  $800 \text{ m/s}$  程度である。ウォータージェットの圧力は、高圧の場合は  $200 \text{ MPa}$  に達する。一方、水道の圧力は  $0.15 \text{ MPa} \sim 0.4 \text{ MPa}$  程度で、地域によって異なる。毎秒1万メートルとは、水道水のおよそ1000倍の圧力をかけて実現しているウォータージェットの流速の、さらに10倍以上の流速である。なお、音速は空気中でおよそ  $340 \text{ m/s}$ 、水中では  $1500 \text{ m/s}$  である。被告の主張が荒唐無稽であることは明らかだろう。

なお、永久磁石しか入っていないパイプテクターを鋼管の外側にとりつけても、磁石の磁場は管の材料の部分にのみ存在し、中を流れる水には全く影響しない（管内部の磁場の強さは地磁気程度になる）ことは既に測定によって確認済みであるため、上記の速度の見積もりはパイプテクターの有無とは無関係である。

#### (5) 第1 3 (1)

もともとの被告の主張（パイプテクター総合資料集より）は「奇数の原子番号の物質、例えば水素（原子番号1）の原子核は、原子核がN極とS極に分極（磁極化）しており、この原子核にある特定の電磁波を与えると、原子核が共鳴振動を起こして回転運動をします。」であった。これに対する原告の反論は「まず、核磁気共鳴を起こすのは奇数の原子番号の物質だけではなく偶数の電子番号をもつ原子核でも核磁気共鳴を起こすものはあり、奇数番号に限られているかのような説明は誤りである。」（準備書面1、2025年8月5日付）である。

原告の主張に電子番号、とあるのは、原子番号、の書き間違いと思われる。

原子核は陽子と中性子からできている。原子核の中の陽子の数が原子番号である。陽子の数と中性子の数を足したものが質量数である。原子核の核スピンは次のように決まる。

陽子の数（原子番号）	質量数	核スピン
偶数	奇数	$1/2, 3/2, 5/2, \dots$
偶数	偶数	0
奇数	奇数	$1, 2, 3, \dots$
奇数	偶数	$1/2, 3/2, 5/2, \dots$

核スピンの0であればNMRで観測できない。

もともと、陽子も中性子も固有の量としてのスピン  $1/2$  を持っている。同じ種類の粒子であれば、スピンは2個ずつ互いに逆向きに組を作った方が安定である。陽子と中性子が両方とも偶数個であれば、互いに逆向きのスピンのペアを作ると余りが生じない。このため、原子番号と質量数の両方が偶数の時、核スピンは0になる。陽子と中性子のいずれかまたは両方が奇数であれば、ペアを作った時にあぶれるものがでてきて、あぶれた分のスピンの核スピンとして残る。原子番号が偶数であっても質量数が奇数ならば核スピンでは0ではない。従って、被告の主張は明らかな間違いである。

なお、核スピンが0でなくても、NMRの信号が強く出るものと弱いものがあること、電子スピンの大きさとその影響を受ける（特に鉄やニッケルなどの集めると磁石になる遷移金属元素の場合に影響が大きくなる）こと、不安定なものは放射線を出して壊変するため放射性同位元素としての管理や取扱いが必要となって安全上使いづらいことから、遷移金属以外で、NMRで見えやすく、放射線を出さない安定な原子核を持つものがNMRの観測に使用される。このようにして使いやすい同位体を選んだ結果の一部が、例えば資料4の表1に（孫引きではあるが）まとめられている。そこで、列挙されている元素の原子番号を順番にみていくと、H（水素）は原子番号1、C（炭素）は原子番号6、N（窒素）は原子番号7、O（酸素）は原子番号8、P（リン）は原子番号15であり、原子番号が奇数のものも偶数のものも混じっている。

「核磁気共鳴を起こすのは、原則として奇数の原子番号の物質」という被告の主張は、NMRの理解以前に核スピンについても理解を全く欠いた記述であり、事実にも反する。

さらに被告は「この原子核にある特定の電磁波を与えると、原子核が共鳴振動を起こして回転運動をします。」と書いているが、これも誤りである。

スピンとは粒子に固有の量であって、粒子の回転運動によって出てくるものではない。陽子や中性子が質量を持つ、陽子は電荷も持つ、というのと同じような意味でスピンを持っている。陽子も中性子  $1/2$  のスピンを持っており、核スピンは、上記のように同種粒子でペアを作った結果あぶれた数から決まるスピンの、陽子と中性子の軌道角運動量（核内における軌道運動に起因）を合成したものになる。このようにして決まる核スピンは核種に固有の量となる。

NMRで特定の電磁波を当てた時に回転運動（実際には歳差運動）をするのは、多数の原子核の核スピン達があつまって作り出すマクロな量としての「磁化」である。こちらの方が、我々が普段目にする磁石のイメージに近い。重要なことは、マクロな磁化が歳差運動をするからといって、原子核が回転運動や歳差運動をするわけではないということである。

もし、原子核が電磁波の照射によって回転（歳差）運動を始めたならば、その運動は量子力学に従うものになるので、とびとびの値の角運動量を持つことになる。すると、核の全スピンは、核スピンと、核の回転運動から出てくる角運動量をさらに合成したものになり、核スピンの大きさが変わってしまう。現実にはこ

のようなことは起きておらず、電磁波の照射前後ともに核スピンの大きさに変化はないので、電磁波照射による原子核の回転（歳差）運動も起きていないといえる。

ただし、NMRの説明をネット検索すると、核スピンを原子核の自転の結果であるかのように表現しているものや、電磁波を照射すると原子核そのものが歳差運動を始めるかのような説明が多数ある。大学の研究者が作っているコンテンツでもそのような説明が散見される。これは、初心者や素人にとって、粒子固有の量としてのスピンというものを直観的に理解することも原子核内の陽子や中性子の運動を考えることも難しい（核スピンの計算は物理学科や量子工学や原子核について主に学ぶ学科など大学の理工系でも限られた学科の2年生～3年生で学ぶことが多く、NMRの主力ユーザーである化学・生物・医学系のカリキュラムではほぼやらない）ことに加えて、たくさんのミクロな核スピン達が集まった結果として生じるマクロな磁化、というものをイメージすることも難しいという理由による。とりあえず回転する原子核のイメージを持ったままでその先を学んでも、NMRやMRIの原理をそれなりに理解できる。このため、こういった簡便な説明が広く行われている。なお、私は、大学の物理化学の授業では、スピンは粒子固有の量だということを講義しているが、核スピンを決める計算方法までは教えていない。

いずれにしても、四半世紀もNMRを謳って商売している被告の説明が未だに初心者か素人のままであることは確かである。

#### (6) 乙21号証

勇田氏の専門分野は主に医用材料に関する機械工学である。機械的な加工をしたときに材料表面がどうなるか、といった研究はしているが、金属材料の表面の錆が水溶液中でどうなるかを扱うのは電気化学の分野であり、この分野については素人である。

「NMRパイプテクターは給水管や空調冷温水配管内に発生する赤錆を抑制し、すでに存在する赤錆を不動態の黒錆に変えて配管を長期延命させる装置で、水と鉄の界面工学における還元作用を起こすものとなり、自然科学上では検証されていますが物理的検証は研究途上です。」とあるが、自然科学上、とは一体自然科学のどの分野のこういった手法を用いて検証されたものを指しているのかが全く意味不明である。

「しかし寿命がピコ秒(10億分の1秒)単位で消滅する水和電子を直接測定する事は大変困難で、特に流体中での測定は現在の科学レベルでは不可能とされています。」は勇田氏の単なる不勉強で、被告が提出した乙18号証がまさに水和電子を直接測定した論文である。論文の出版が2016年なので、現在の科学レベルでは不可能、どころか、およそ10年前に既に測定されている。

「2005年1月号の世界的学術誌「サイエンス」にてカリフォルニア大学の

バーレット博士のグループが理論物理学として、水のクラスタのサイズを小さくすると水の自由電子はその位置をクラスタの内側から外側に変動させるという論文を発表しました。その小さなクラスタの水を運動させると理論的に水の自由電子を剥離放電させることができます。」は元の論文を理解できていない内容である。資料5-1にバーレットらの発表した論文を、資料5-2に関連する部分の訳（1ページ目のアブストラクトと、2ページ目の水和電子の作り方）を示す。アブストラクトに沿って内容を説明すると、「水クラスタのサイズを分子200個以下にして垂直結合エネルギーを低くして過剰電子を与えたら電子はクラスタの表面にあった。高い垂直結合エネルギーのときは電子は内部溶媒和されている。これらのクラスタの性質は、バルクの水の性質に外挿できる」といった内容になる。本当はバルクの水の中での水和電子について知りたいのだけど、それが難しいから、クラスタの小さいものから大きいものまで水和電子を含んだ陰イオンクラスタを作って、性質がどのようにサイズに依存するかを調べて、バルクの性質を推定しよう、という話である。

このときの陰イオンクラスタの作り方は次の通り。まず、液体の水の上にアルゴンガスを通過させると、水が蒸発してアルゴンガスに混じってくる。これは、水の上に空気を吹き付けると水が蒸発して空気の湿度が上がる、というのと同じである。実は、水が空気中に蒸発するときは、ばらばらの水分子になるのではなく様々な大きさの塊になって液面から離れる。水クラスタの混じったガスを真空チャンバーに入れると、圧力差によって膨張し、温度が下がると同時にさらに細かくばらばらになる。普段使っている霧吹きやスプレーの非常に強力なものが実現していると考えればよい。膨張の直前に、500 eVという高エネルギーの電子を照射することで、クラスタに電子をくっつける。その後、質量で分離して、大きさごとに陰イオンクラスタを測定する。

つまりここでいうクラスタはバルクの水の中の塊ではなく、空気中を飛んでいる水の塊であり、圧力を下げた後は温度も下がっているので、分子数十～数百個からなる、水というよりはむしろ氷の塊である。陰イオンクラスタを作成するためには500 eVという高電圧が必要なので、パイプテクターでは実現できない。また、この論文では、電子を再び引き剥がすのにフェムト秒パルスを発振するレーザーを使っている。勇田氏の主張は、こういった実験条件を全く無視した主張となっており、まともに論文の内容を理解して書いたものではなく、論文の一部のキーワードだけを拾って作文したに過ぎない。

「NMRパイプテクターが配管内の赤錆を黒錆化している事は界面工学上検証されています」のように専門家が書くのであれば、最低限、査読付きの欧文誌に掲載された論文を引用する必要がある。しかし勇田氏は全く何も引用していないため、検証済みであるという根拠が不明である。

勇田氏が示した7例の事例は自ら確認したものではない。実験に立ち会うとか、測定を自ら行っていれば、専門家としてそのように書くはずである。「選定」と書いているということは、日本システム企画株式会社が示したデータのうち、

自説に都合のよいものを選んだに過ぎない。

## 第2 まとめ

以上に述べたように、被告が提出している「科学的」主張は、キーワードだけを拾って内容を理解せず作文したものに過ぎない。内容を理解していないから、10年前に水和電子を作って測定した研究成果を乙18号証として提出しておいて、液体中で水和電子の測定は不可能と主張する乙21号証を提出したりするのである。

科学はトリビアの集まりではないし、用語だけ抜き出して使えば科学的になるわけでもない。素人相手ならそれでも通用するかもしれないが、化学や物理の専門家相手には通用しないということをいい加減に自覚すべきである。

以上

## 資料目録

資料1 鈴木茂「鉄さびの形成過程と構造変化」、材料と環境 57 巻、2008 年、66-69

資料2-1 乙18号証の元の論文。Journal of the American Chemical Society, 138 巻、2016 年、7551-7557

資料2-2 資料2-1の部分訳

資料3 「管内の流れと流体摩擦損失」熊本大学工学部の講義資料

資料4 NMRにおける同位体ラベル法

資料5-1 バーレットの論文。Science 307(2005)93-96

資料5-2 資料5-1の部分訳



# 鉄さびの形成過程と構造変化

鈴木 茂\*

\* 東北大学 多元物質科学研究所

## Formation Process and Structural Changes of Iron rust

Shigeru Suzuki\*

\* Institute of Multidisciplinary Research for Advanced Materials, Tohoku University

Recent works on formation processes of iron corrosion products are reviewed. Although green rust (GR) is sometimes observed as intermediate corrosion products of iron based alloys, it is easily transformed to ferric oxyhydroxides such as goethite and lepidocrocite through the aerial oxidation. This is because GR contains ferrous ions which are oxidized to ferric ions in aqueous solution. In particular, the characteristic features of the structure and transformation of GR are overviewed in this paper.

**Key words :** green rust, iron rust, oxidation, X-ray diffraction

### 1. はじめに

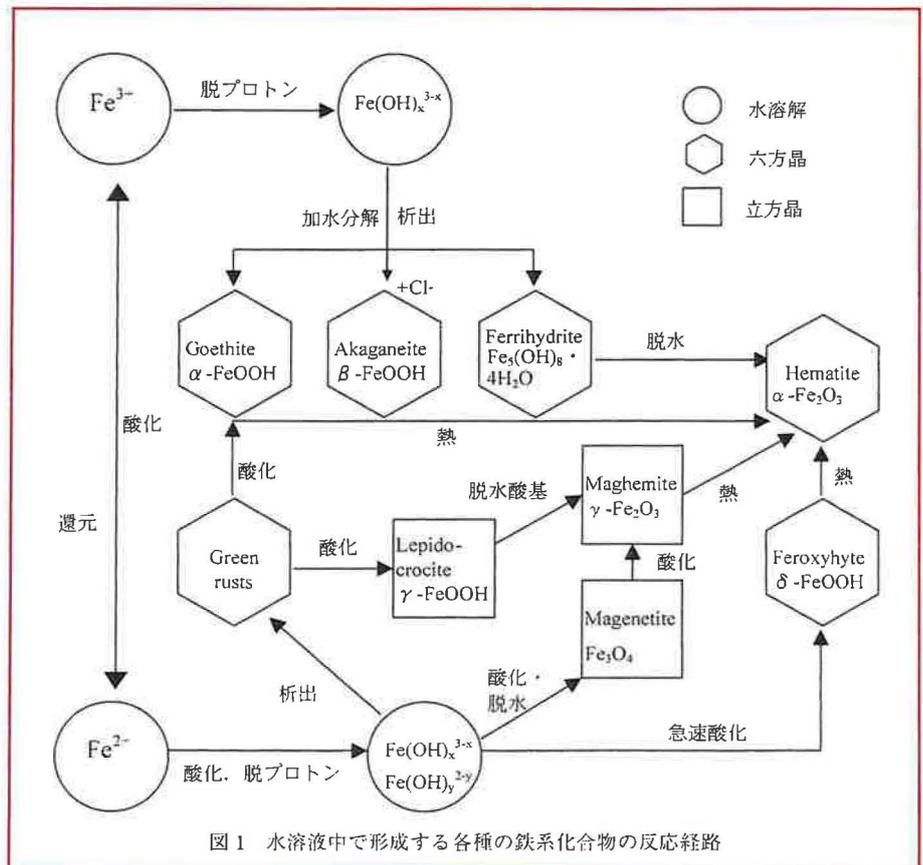
金属鉄の Fe は大気中の酸素などと反応し Fe<sup>II</sup> や Fe<sup>III</sup> へと酸化し、固相の酸化物を形成する。大気中に水分がある場合や水溶液中においては、Fe は水を介した電気化学的反応により Fe<sup>II</sup> や Fe<sup>III</sup> となり、いわゆる鉄さび（腐食生成物）が形成する<sup>1)</sup>。このような鉄さびには、図 1 に示すような反応経路で形成する各種の鉄系化合物がある。乾燥雰囲気では高温で金属鉄上に酸化膜が成長するのに対し、これらの水溶液中での鉄さびは室温付近でも成長するため、水が鉄さび形成において大きな役割を演じていることを示している<sup>2)-4)</sup>。さらに、乾湿の繰り返し雰囲気では、酸素と水が鉄さびの形成反応に複雑に影響し、鉄さびは水溶液を介した構造変化が起こる。これらの鉄さびは微粒子であり、その種類は水の pH、電位、共存する元素の種類や量、温度などの反応条件によって決まると考えられる<sup>2)-5)</sup>。

大気に長時間曝した金属鉄上に形成する鉄さびは、主にオキシ水酸化鉄 (Fe<sup>III</sup>) などである<sup>4)-6)</sup>。これらの最終的な鉄さびになる前の段階で、Green Rust (緑色のさび; GR と略す) がしばしば観察されるが、GR 中の Fe<sup>II</sup> は酸素などの影響で Fe<sup>III</sup> に酸化しやすくオキシ水酸化鉄などへと構造変化を起こしやすい。このため、これまで GR の構造に関する十分なデータが得られていなかったが、GR

は腐食の分野で重要な意味を持っているため、GR の構造や形成条件などに関する研究は最近も行われている<sup>7)-14)</sup>。本稿では、これらの GR の構造の特徴、それらの酸化過程、さらに十分酸化した Fe<sup>III</sup> からなるオキシ水酸化鉄の局所構造などに関する最近の研究結果について紹介する。

### 2. Green Rust の構造

GR は構造的に主に GR1 と GR2 に分類され、それらは [Fe<sup>II</sup><sub>1-x</sub>Fe<sup>III</sup><sub>x</sub>(OH)<sub>2</sub>]<sup>x+</sup> の層間にアニオンが挟まった構



\* 〒980-8579 仙台市青葉区片平 2-1-1 (2-1-1, Katahira, Aoba-ku, Sendai, 980-8579 Japan)

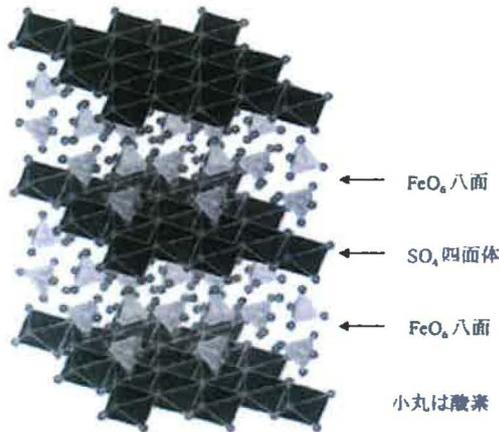


図2 Green Rust (GR(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)) の結晶構造の例 (FeO<sub>6</sub> 八面体からなる層とアニオン (ここでは SO<sub>4</sub> 四面体) の層からなっている)

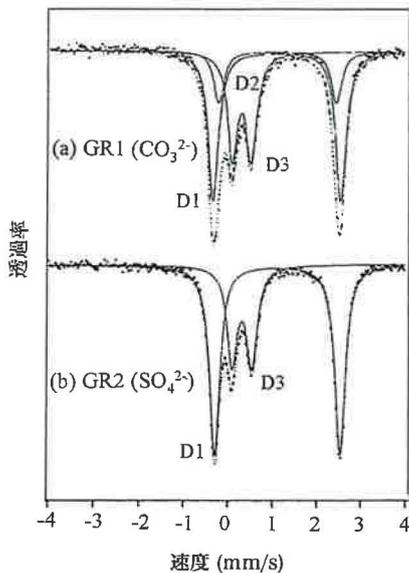


図3 GR1(CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) および GR2(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) の 78 K での <sup>57</sup>Fe メスバウアスペクトル

造をとっている<sup>9), 10)</sup>。図2は代表的な GR2(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) の構造を示しており、Fe は 6 つの酸素で囲まれた FeO<sub>6</sub> 八面体となり、S は 4 つの酸素で囲まれた SO<sub>4</sub> 四面体となり、それらは層状になっている。このような、GR2(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) 以外の Fe<sup>II</sup> を含む層構造をなす鉄系化合物としては、Fe<sup>II</sup>(OH)<sub>2</sub> (White Rust と呼ばれる)、GR1(Cl<sup>-</sup>)、GR1(CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) などがある。

このような層状構造の GR は常磁性であり、図3のような特徴的なメスバウアスペクトルを示す<sup>11)</sup>。スペクトルで四重極分裂を示している D<sub>1</sub> と D<sub>2</sub> の成分は、それぞれ水分子とアニオンが主に配位した Fe<sup>II</sup> によるものであり、D<sub>3</sub> は Fe<sup>III</sup> による吸収であると考えられている。GR2 には D<sub>2</sub> の成分がみられる。これらの GR に対し、空気などにより酸化した Fe<sup>III</sup> を多く含むオキシ水酸化鉄や酸化物は、低温で反強磁性あるいは強磁性となる。実際に大気腐食で形成した鉄さびの成分は、低温におけるメスバ

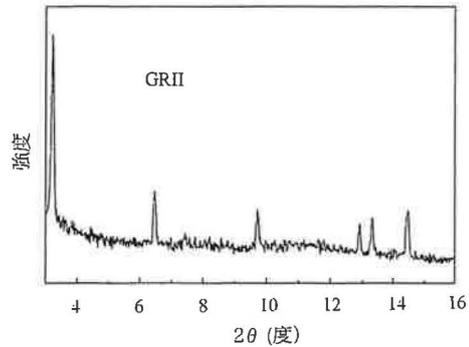


図4 鉄-シリコン合金の表面に形成した腐食生成物層の下層から抽出した試料からの X 線回折パターン (横軸は 20 keV の X 線で測定したときの回折角)

ウア分光測定により調べられてきた<sup>15), 17)</sup>。それらの結果から、大気腐食による鉄さびは主に α-FeOOH で構成され、その粒子サイズは非常に小さいことなどが示されてきた。これらのオキシ水酸化鉄などの化合物のメスバウアパラメータは、幾つかの文献にまとめられている<sup>3), 16)</sup>。鉄さび成分の構造解析にはメスバウア分光法は有効であるが、X 線回折法などによる構造解析も併用するのが有用である。

### 3. 水溶液中での酸化による Green Rust の構造変化

Fe<sup>II</sup> を含む Fe(OH)<sub>2</sub> や GR は、鉄の電位-pH 図において金属鉄と Fe<sup>III</sup> からなる α-FeOOH や γ-FeOOH の間に位置する。Fe(OH)<sub>2</sub> や GR は酸化しやすいため、それらの鉄さび成分を通常の方法で測定するのは困難であるが、金属鉄表面と水溶液界面近傍で形成したわずかな腐食生成物の構造を放射光による X 線回折で検出することができた<sup>19), 21)</sup>。

2% シリコンを含む合金の表面に硫酸ナトリウム水溶液を滴下し、液相中に形成した鉄さび層の下層付近から抽出したわずかな鉄さびの X 線回折パターンを図4に示す<sup>21)</sup>。通常、鉄さびの上層には Fe<sup>III</sup> からなる FeOOH が形成されるが、金属鉄基板に近い層から抽出した鉄さびとして明瞭な GR の回折ピークが認められた。これらの結果は、金属鉄と鉄さび層界面付近で Fe<sup>II</sup> の量が多いことを示唆しており、水に溶解した Fe<sup>II</sup> は複雑な過程を経て Fe<sup>III</sup> からなる最終腐食生成物に変化することが確認された。さらに、水溶液中で形成した鉄さびを直接同定する in-situ 解析では、初期さびとして Fe(OH)<sub>2</sub> や GR が形成し、乾湿の繰り返しで大気中の酸素により FeOOH が形成することも確認された<sup>19)</sup>。

GR は最終鉄さびの形成過程を調べる上で重要であり、その合成方法は反応条件を十分制御することにより確立されてきた<sup>22)</sup>。これらの方法で合成した GR(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) の構造は、水溶液中においても空気に接しただけで変化する。図5は、室温付近の幾つかの温度で GR(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) を入れた水溶液中に、21% の酸素を含む窒素を通過させたときに形成した粒子の X 線回折パターンを示している<sup>23)</sup>。これらの結果から、空気と同様の成分のガスにより GR(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>) は多くが α-FeOOH へ変化し、温度によって

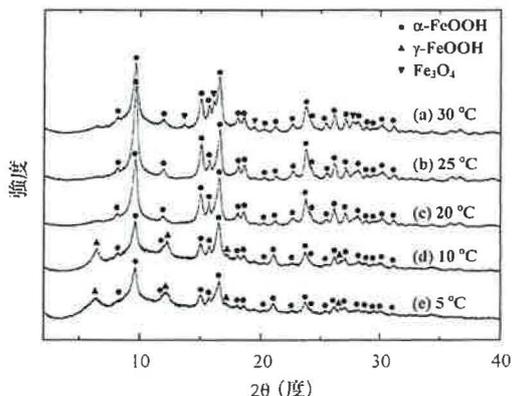


図5 水溶液中におけるGR(SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)が、酸素21%を含む窒素ガスにより酸化し $\alpha$ -FeOOHに構造変化する粒子からのX線回折パターン<sup>22)</sup>(横軸はMoK $\alpha$ 線で測定したときの回折角)

$\gamma$ -FeOOHやFe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>(スピネル構造の酸化物)も形成することがわかる。これらの結果から、 $\alpha$ -FeOOH、 $\gamma$ -FeOOH、Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>などの形成において、温度や酸化速度などの反応条件が重要な因子であることが明らかになってきた。実際の大気腐食で形成する鉄さびにはこれらの成分が含まれており、鉄さび成分は反応条件に複雑に左右されていることが示唆された。

#### 4. 乱れた構造のオキシ水酸化鉄

鉄さびの主成分のオキシ水酸化鉄の構造はFeO<sub>6</sub>八面体で構成されているが、形成過程で他のイオンの影響を受けてFeO<sub>6</sub>八面体の連結に乱れが生じることがある。それらを明らかにするために、拡張X線吸収微細構造(EXAFS)による局所構造解析が行われた<sup>24)</sup>。さらに、結晶の中距離的な構造乱れを調べるために、X線異常散乱法<sup>25)</sup>を用いた精密構造解析も行われた<sup>26)</sup>。以下では、EXAFS法を $\alpha$ -FeOOH粒子の局所構造解析に適用した結果について示す<sup>24)</sup>。

図6(a)および(b)は、それぞれ水溶液中で作製した $\alpha$ -FeOOHと $\gamma$ -FeOOHのFe-K吸収端でのEXAFSスペクトルから得られた動径構造関数である<sup>24)</sup>。短い距離の第1番目のピークはFe-Oの最隣接の相関によるものであり、これは $\alpha$ -FeOOHや $\gamma$ -FeOOHがFeO<sub>6</sub>八面体で構成されていることに対応している。 $\gamma$ -FeOOHの構造はFeO<sub>6</sub>八面体の辺を共有した連結(図7(b)参照)だけで表され、このことは第2番目のピークが比較的鋭いことに対応している。一方、 $\alpha$ -FeOOHの構造にはFeO<sub>6</sub>八面体の辺以外に2つの頂点を共有した連結(図7(a)参照)もあり、第2番目のFe-Fe相関のピーク位置より長距離側に第3番目のFe-Fe相関のピークがある。また、第2番目や第3番目のピークは、Siの取り込む量が増えるとともに低くなっており、これらの結果はFeO<sub>6</sub>八面体の連結が、Siの添加により乱れていることを示唆している。これらの局所構造の解析結果と対応させて、Si量の少ない $\alpha$ -FeOOH粒子と $\gamma$ -FeOOH粒子、およびSiを取り込んだ $\alpha$ -FeOOH粒子と $\gamma$ -FeOOH粒子の原子配列を精密構造解析により見積もった結果を、図7に示す<sup>27)</sup>。これ

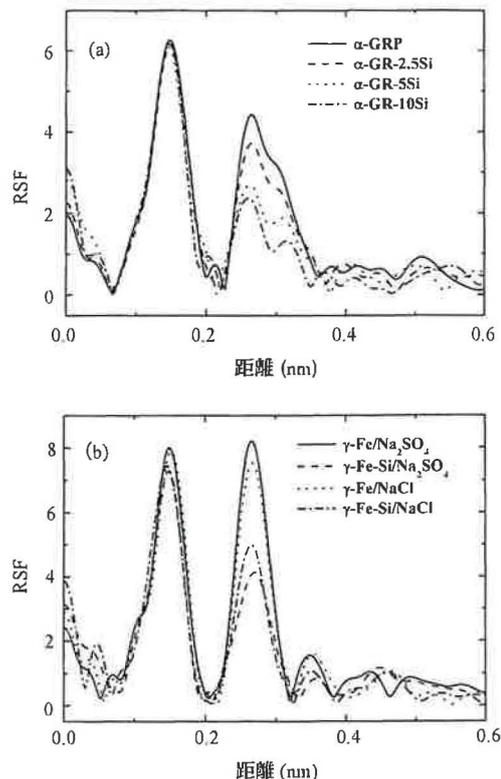


図6 水溶液中で合成した(a) $\alpha$ -FeOOH粒子、(b) $\gamma$ -FeOOH粒子のEXAFSスペクトルから得られた動径構造関数

$\alpha$ -GRPは純粋なGRから変化した $\alpha$ -FeOOH、 $\alpha$ -GR-2.5Si、 $\alpha$ -GR-5Siおよび $\alpha$ -GR-10Siはそれぞれ2.5%Si、5.0%および10%Siを含むGRから変化した $\alpha$ -FeOOH。 $\gamma$ -Fe/Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>と $\gamma$ -Fe-Si/Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>は、それぞれNa<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>溶液中でFeとFe-Si合金から形成した $\gamma$ -FeOOH。 $\gamma$ -Fe/NaClと $\gamma$ -Fe-Si/NaClは、それぞれNaCl溶液中でFeとFe-Si合金から形成した $\gamma$ -FeOOH。Siの量が増えると、第2番目のFe-Fe相関のピークが低くなっている。

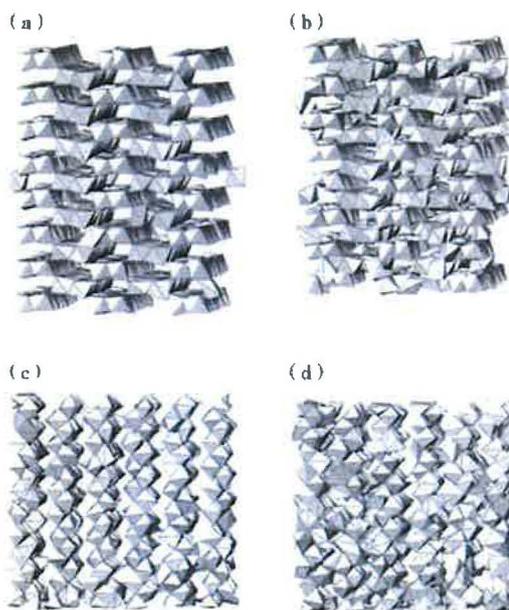


図7 水溶液中で合成した(a) $\alpha$ -FeOOH粒子、(b) $\gamma$ -FeOOH粒子、およびSiを取り込んだ(c) $\alpha$ -FeOOH粒子と(d) $\gamma$ -FeOOH粒子の原子配列(構造をFeO<sub>6</sub>八面体で記述)

らの結果からも, Si の含有により  $\alpha$ -FeOOH や  $\gamma$ -FeOOH の構造が乱れることが示されてきた。

## 5. おわりに

本稿では, 腐食初期に形成する  $\text{Fe}^{\text{II}}$  を含む Green Rust の構造や酸化による構造変化, 十分酸化した  $\text{Fe}^{\text{III}}$  か  $\alpha$ -FeOOH や  $\gamma$ -FeOOH の局所構造解析の結果に関する最近の研究結果を紹介した。鉄さびは大気の影響によって形成するが, 大気と平衡するまで酸化させると,  $\text{Fe}^{\text{III}}$  が主体の  $\alpha$ -FeOOH や  $\gamma$ -FeOOH, そして Cl を含む場合には  $\beta$ -FeOOH が形成することが多い。また, ここではスピネル構造の酸化物を  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  としたが, 実際には  $\gamma$ - $\text{Fe}_2\text{O}_3$  あるいはそれらの欠陥を持つものもスピネル構造を取り得る。このため, スピネル構造の酸化物が同定されたとしても  $\text{Fe}^{\text{II}}$  が含まれているとは限らないと考えられる。このため, 鉄さびの FeOOH が  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  に還元するという考えもあるが,  $\text{Fe}^{\text{II}}$  を含む GR の存在も無視できないと思われる。これまでの鉄さびの研究には, 十分酸化させた鉄さびに関するものが多いが, それだけでは反応機構が十分把握できない。このため, GR などを制御した条件で酸化させた反応生成物などの構造解析を系統的に行うことにより, 鉄さびの形成機構の解明がさらに進むものと考えられる。

## 謝辞

本稿で紹介した研究を共同で推進してきた東北大学多元物質科学研究所 早稲田嘉夫教授, 村松淳司教授, 篠田弘造准教授, 蟹江澄志助教, 京都大学大学院工学研究科 松原英一郎教授, 新潟大学 齋藤正敏准教授等の皆様に深謝したい。各種酸化鉄の構造解析の協力を頂いた権相九博士, 井之上勝哉氏等の皆様にも感謝したい。

## 参考文献

- 1) T. Misawa, K. Hashimoto and S. Shimodaira, *Corros. Sci.* **14**, 131 (1974).
- 2) J.-P. Jolivet, M. Henry, J. Livage and E. Bescher, "Metal Oxide Chemistry and Synthesis", John Wiley & Sons, Chichester (2000).
- 3) R. M. Cornell and U. Schwertmann, "The Iron Oxides", John-Wiley VCH, Weinheim (2003).
- 4) Y. Waseda and S. Suzuki (ed.), "Characterization of Corrosion Products on Steel Surfaces", Springer-Verlag, Heidelberg (2006).

- 5) S. Suzuki and Y. Waseda, *Materia Japan (Bull. Jpn. Inst. Met.)*, **42**, 806 (2003).
- 6) S. Suzuki, K. Shinoda, M. Saito, E. Matsubara and Y. Waseda, *Bull. Iron Steel Inst. Jpn.*, **12**, 9 (2007).
- 7) J.-M. R. Génin, M. Abdelmoula, C. Ruby and C. Upadhyay, *C. R. Geoscience*, **338**, 402 (2006).
- 8) C. Ruby, A. Aissa, A. Géhin, J. Cortot, M. Abdelmoula and J.-M. R. Génin, *C. R. Geoscience*, **338**, 420 (2006).
- 9) A.-P. Jolivet, E. Tronc and C. Chanéac, *C. R. Geoscience*, **338**, 448 (2006).
- 10) J.-M. R. Génin, C. Ruby, A. Géhin and Ph. Refait, *C. R. Geoscience*, **338**, 402 (2006).
- 11) L. Simon, M. François, Ph. Refait, G. Renaudon, M. Lelaurain and J.-M. R. Génin, *Solid State Sci.*, **5**, 327 (2003).
- 12) J.-M. R. Génin and C. Ruby, *Solid State Sci.*, **6**, 705 (2004).
- 13) Ph. Refait, A. Géhin, M. Abdelmoula and J.-M. R. Génin, *Corros. Sci.*, **45**, 659 (2003).
- 14) C. Ruby, A. Géhin, M. Abdelmoula, J.-M. R. Génin and J.-P. Jolivet, *Solid State Sci.*, **5**, 1055 (2003).
- 15) Ph. Refait, J.-B. Memet, C. Bon, R. Sabot and J.-M. R. Génin, *Corros. Sci.*, **45**, 659 (2003).
- 16) T. Okada, Y. Ishii, T. Mizoguchi, I. Tamura, Y. Kobayashi, Y. Takagi, S. Suzuki, H. Kihira, M. Itoh, A. Usami, K. Tanabe and K. Masuda, *Jpn. J. Appl. Phys.*, **39**, 3382 (2000).
- 17) T. Kamimura, S. Nasu and T. Tazaki, *Hyperfine Interactions*, **139-140**, 175 (2003).
- 18) T. Kamimura and S. Nasu: "Characterization of Corrosion Products on Steel Surfaces", edited by Y. Waseda and S. Suzuki, p.274, Springer-Verlag, Heidelberg (2006).
- 19) Y. Takahashi, E. Matsubara, S. Suzuki, Y. Okamoto, T. Komatsu, H. Konishi, J. Mizuki and Y. Waseda, *Mater. Trans.*, **46**, 673 (2005).
- 20) E. Matsubara, S. Suzuki and Y. Waseda, "Characterization of Corrosion Products on Steel Surfaces", edited by Y. Waseda and S. Suzuki, p.105, Springer-Verlag, Heidelberg (2006).
- 21) S. Suzuki, E. Matsubara, T. Komatsu, Y. Okamoto, K. Kanie, A. Muramatsu, H. Konishi, J. Mizuki and Y. Waseda, *Corros. Sci.*, **49**, 1081 (2007).
- 22) A. Géhin, C. Ruby, M. Abdelmoula, O. Benali, J. Ghanbaja, Ph. Ragait and J.-M. R. Génin, *Solid State Sci.*, **2**, 61 (2002).
- 23) K. Inoue, S.-K. Kwon, K. Kimijima, K. Kanie, A. Muramatsu, M. Shinoda, S. Suzuki and Y. Waseda, *ISIJ Inter.*, **47**, 453 (2007).
- 24) S.-K. Kwon, S. Suzuki, K. Shinoda and Y. Waseda, *Corros. Sci.* **49**, 1513 (2007).
- 25) Y. Waseda, "Anomalous X-Ray Scattering for Materials Characterization", Springer-Verlag, Heidelberg (2002).
- 26) Y. Waseda, S. Suzuki and M. Saito, "Characterization of Corrosion Products on Steel Surfaces", edited by Y. Waseda and S. Suzuki, p.77, Springer-Verlag, Heidelberg (2006).
- 27) S.-K. Kwon, K. Kimijima, K. Kanie, S. Suzuki, A. Muramatsu, M. Saito, K. Shinoda and Y. Waseda, *Corros. Sci.* **49**, 2946 (2007).

(2007年6月27日受理)

## 要 旨

鉄さびの形成機構に関する最近の研究について概説した。グリーンラスト (GR) は鉄基合金の中間的な腐食生成物として時々観察されるが, それらは空気酸化によりゲーサイトやレビドクロサイトなどのオキシ水酸化鉄に変態しやすい。これは, GR が二価の鉄イオンを含んでおり, 水溶液中で三価の鉄イオンに変化するためである。ここでは, これらの GR の構造や変態の特徴について述べた。

キーワード グリーンラスト, 鉄さび, 酸化, X線回折

# Partially Hydrated Electrons at the Air/Water Interface Observed by UV-Excited Time-Resolved Heterodyne-Detected Vibrational Sum Frequency Generation Spectroscopy

Korenobu Matsuzaki,<sup>†,‡,⊥</sup> Ryoji Kusaka,<sup>†,||</sup> Satoshi Nihonyanagi,<sup>†,§</sup> Shoichi Yamaguchi,<sup>†,§,#</sup> Takashi Nagata,<sup>‡</sup> and Tahei Tahara<sup>\*,†,§</sup>

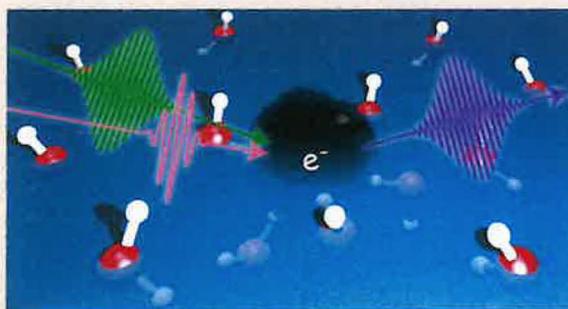
<sup>†</sup>Molecular Spectroscopy Laboratory, RIKEN, 2-1 Hirosawa, Wako, Saitama 351-0198, Japan

<sup>‡</sup>Department of Chemistry, School of Science, The University of Tokyo, 3-8-1 Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153-8902, Japan

<sup>§</sup>Ultrafast Spectroscopy Research Team, RIKEN Center for Advanced Photonics (RAP), RIKEN, 2-1 Hirosawa, Wako, Saitama 351-0198, Japan

## Supporting Information

**ABSTRACT:** Hydrated electrons are the most fundamental anion species, consisting only of electrons and surrounding water molecules. Although hydrated electrons have been extensively studied in the bulk aqueous solutions, even their existence is still controversial at the water surface. Here, we report the observation and characterization of hydrated electrons at the air/water interface using new time-resolved interface-selective nonlinear vibrational spectroscopy. With the generation of electrons at the air/water interface by ultraviolet photoirradiation, we observed the appearance of a strong transient band in the OH stretch region by heterodyne-detected vibrational sum-frequency generation. Through the comparison with the time-resolved spectra at the air/indole solution interface, the transient band was assigned to the vibration of water molecules that solvate electrons at the interface. The analysis of the frequency and decay of the observed transient band indicated that the electrons are only partially hydrated at the water surface, and that they escape into the bulk within 100 ps.



## INTRODUCTION

When an electron is released into water, the hydrated electron is formed. This simplest anionic species consists of only one electron and several solvating water molecules, and has been intensively studied<sup>1–9</sup> because of its crucial role in a variety of chemical/physical/biological processes.<sup>10</sup> Although the reactions of hydrated electrons are particularly important at interfaces where hydrated electrons encounter chemical species in the other phase, the properties of hydrated electrons at interfaces are still poorly understood. So far, two studies claim to have observed hydrated electrons at the air/water interface: A photoelectron study using a liquid water jet claim that the electrons are half hydrated at the interface,<sup>11</sup> whereas a second harmonic generation (SHG) study at the air/water interface conclude that the electrons are fully hydrated.<sup>12</sup> Their conclusions differ from each other, and in fact, even the existence of electrons at the water surface has not been established yet.<sup>13</sup>

Heterodyne-detected vibrational sum frequency generation (HD-VSFG) spectroscopy has recently emerged as a powerful technique for the steady-state characterization of interfaces.<sup>14,15</sup> VSFG is a second-order nonlinear optical process that allows us to selectively obtain the vibrational spectra of an interfacial

layer as thin as 1 nm. With the heterodyne detection, HD-VSFG enables the direct determination of the phase and amplitude of the second-order nonlinear susceptibility ( $\chi^{(2)}$ ), which provides vibrational spectra at aqueous interfaces for direct comparison with vibrational spectra in the bulk.<sup>16–19</sup> The combination of HD-VSFG spectroscopy and the pump–probe method<sup>20–27</sup> is ideal for characterizing hydrated electrons transiently generated at the air/water interface. Here we report the observation and characterization of hydrated electrons at the air/water interface by UV-excited time-resolved HD-VSFG spectroscopy which was developed for this study.

## EXPERIMENTAL SECTION

**Materials.** Air/water and air/indole solution interfaces were used as the sample. For the air/water interface, high purity water (18.2 M $\Omega$ -cm resistivity) obtained from a commercial water purification system (Millipore, Milli-Q Advantage A10) was used as it is. For the air/indole solution interface, 17 mM indole aqueous solution was prepared by dissolving indole (purity >99.0%, Tokyo Chemical

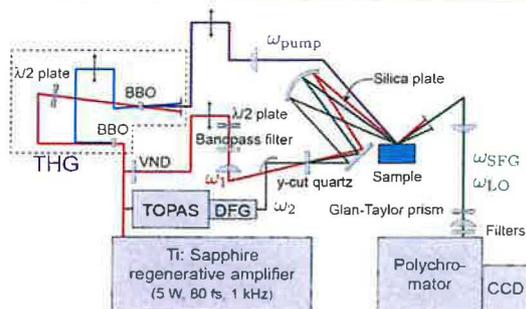
Received: November 18, 2015

Revised: February 27, 2016

Published: June 9, 2016

Industry) in the high-purity water with approximately 5 h of sonication. The temperature of both of the liquid samples during the measurements was kept at the room temperature (24–25 °C).

**UV-Excited Time-Resolved HD-VSFG Spectroscopy.** A new setup was developed to perform UV-excited time-resolved heterodyne-detected vibrational sum frequency generation (HD-VSFG<sup>16</sup>) experiments in this study (Figure 1). In this setup, a commercial Ti:sapphire



**Figure 1.** Schematic of the UV-excited time-resolved HD-VSFG spectrometer developed in the present study to perform the detection and characterization of short-lived transient species at air/liquid interfaces.

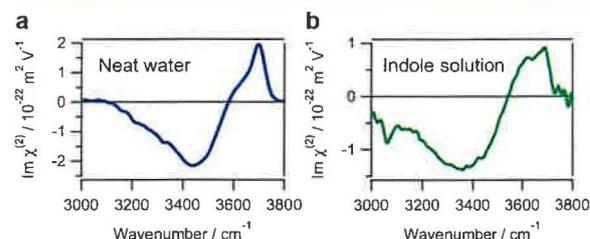
regenerative amplifier (Spectra Physics, Spitfire Ace) was used as the light source which generates 800 nm pulses (5 mJ, 80 fs) at the repetition rate of 1 kHz. Of the output, 1 mJ was attenuated by a variable neutral density (VND) filter and spectrally narrowed by a bandpass filter (center wavelength, 795 nm; bandwidth, 20 cm<sup>-1</sup>) to be used as the narrow band visible light,  $\omega_1$ . Another 2 mJ was converted to a tunable and broadband infrared beam ( $\omega_2$ ) using a commercial optical parametric amplifier with a difference frequency generation unit (Spectra Physics, TOPAS-C). Using these  $\omega_1$  and  $\omega_2$  beams, the HD-VSFG measurement was carried out in the following way. First,  $\omega_1$  and  $\omega_2$  beams were focused into a thin crystal of y-cut quartz (thickness, 10  $\mu\text{m}$ ), where the local oscillator ( $\omega_{LO}$ ) was generated by the sum frequency mixing of  $\omega_1$  and  $\omega_2$ . A plano-convex lens ( $f = 500$  mm) and an off-axis parabolic mirror ( $f = 100$  mm) were used for focusing  $\omega_1$  and  $\omega_2$ , respectively. The generated local oscillator and the transmitted  $\omega_1$  and  $\omega_2$  beams were then refocused by a spherical concave mirror onto the sample surface. The incident angle and the polarization direction were  $\sim 40^\circ$  and S for  $\omega_1$ , and  $\sim 50^\circ$  and P for  $\omega_2$ . In this process,  $\omega_{LO}$  was transmitted through a silica plate of 3 mm thickness, causing it to be delayed by about 5 ps with respect to  $\omega_1$  and  $\omega_2$  beams. At the sample surface, VSFG took place and generated the sum frequency light ( $\omega_3$ ). The S-polarized component of  $\omega_3$  and  $\omega_{LO}$  was isolated by a Glan-Taylor prism, and the two beams were collinearly introduced into a polychromator. Inside the polychromator,  $\omega_3$  and  $\omega_{LO}$  were frequency dispersed and detected by a liquid nitrogen cooled charge coupled device (CCD; Princeton Instruments, Spec-10). The interference pattern recorded on the CCD was analyzed in a similar manner to that we previously reported to obtain the complex second-order nonlinear susceptibility,  $\chi^{(2)}$ .<sup>16,28</sup> The phase and amplitude calibration was done using quartz as the reference.

In the time-resolved measurements, the remaining 2 mJ of the regenerative amplifier output was converted to the UV pump light ( $\omega_{\text{pump}}$ ) at 267 nm. In this process, the fundamental light at 800 nm was first converted to the second harmonic light at 400 nm in a  $\beta$ -barium borate (BBO) crystal (CASTECH, Type I, thickness: 1 mm). The third harmonic light at 267 nm was then generated by sum frequency mixing of the fundamental and the second harmonic beams in another BBO crystal (CASTECH, Type I, thickness: 1 mm) after optimizing the temporal overlap between the two beams. The UV pump light generated in this manner was focused onto the sample surface using a plano-convex lens ( $f = 350$  mm) with the incident angle of  $25^\circ$  and with the P-polarization, and the change of  $\chi^{(2)}$  ( $\Delta\chi^{(2)}$ )

caused by the pump light was evaluated as the transient spectrum. The pump-probe delay of the transient spectrum is determined by the temporal separation between  $\omega_2$  and  $\omega_{\text{pump}}$  pulses, because the pulse duration of  $\omega_2$  ( $\sim 100$  fs) is much shorter than that of  $\omega_1$  ( $\sim 1$  ps). This temporal separation was adjusted by a computer-controlled delay stage. The instrumental response was determined from the rising time of  $\Delta\chi^{(2)}$  of a ZnO crystal, and the fwhm of the fitted Gaussian function was 130 fs. Pump light intensity was adjusted to be 25 mW for the air/water interface, and 5 mW for the air/indole solution interface. At the air/water interface, the pump light was focused more tightly than at the air/indole solution interface to make the two-photon absorption more efficient. When the UV-pump light is used, the accumulation of the photodegraded sample at the sample surface becomes problematic. This was avoided by continuously flowing the sample solution during the measurements while the sample surface was kept at the same height throughout the measurement with the accuracy of about 1  $\mu\text{m}$ , which is the requirement for a successful HD-VSFG measurement.<sup>16,28</sup> The typical acquisition time of transient spectra at each delay was  $\sim 10$  min.

## RESULTS AND DISCUSSION

**Air/Water Interface.** The steady-state interface-selective spectrum (where  $\text{Im } \chi^{(2)}$  is the imaginary part of the second-order nonlinear susceptibility) of the air/water interface is shown in Figure 2a. A positive band at  $\sim 3700$  cm<sup>-1</sup> and a



**Figure 2.** Steady-state  $\text{Im } \chi^{(2)}$  spectrum (a) at the air/water interface and (b) at the air/indole solution interface.

negative band at  $\sim 3450$  cm<sup>-1</sup> are clearly observed, which are assignable to the OH stretch vibrations of the free OH group and the hydrogen-bonded OH group, respectively.<sup>29–31</sup> We note that the positive band below 3200 cm<sup>-1</sup>, which was reported in previous HD-VSFG studies,<sup>16,31</sup> does not appear in this spectrum. In fact, our recent studies have shown that no noticeable positive vibrational resonance exists in this region within the S/N, and the previously reported band is likely an artifact due to inaccurate phase calibration.<sup>30,32</sup>

When the sample surface is irradiated with 267 nm pump light, electrons are generated through the two-photon ionization of water,<sup>5</sup>

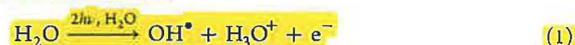
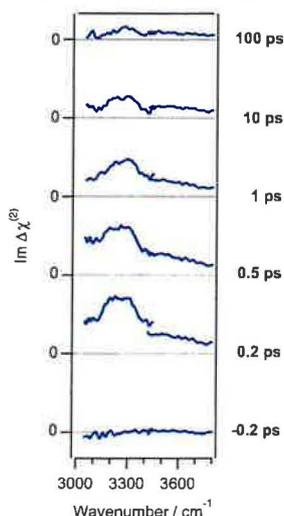


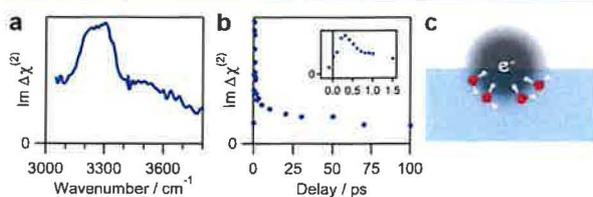
Figure 3 shows the UV-pumped time-resolved interface-selective spectra,  $\text{Im } \Delta\chi^{(2)} = \text{Im}[\chi^{(2)}(t) - \chi^{(2)}_0]$ , in the OH stretch region at the air/water interface. ( $\chi^{(2)}(t)$  and  $\chi^{(2)}_0$  are the second-order nonlinear susceptibilities in the presence of UV light at delay  $t$  and in the absence of UV light, respectively.) In these transient spectra, the 3050–3400 and 3400–3800 cm<sup>-1</sup> ranges were measured separately, and they are connected using the same scaling factor for all the delays. As readily seen in this figure, a very strong positive transient band at around 3260 cm<sup>-1</sup> and a broad positive offset appear with UV irradiation, and they decay almost completely within 100 ps. The decay is monotonic, and no appreciable change in the



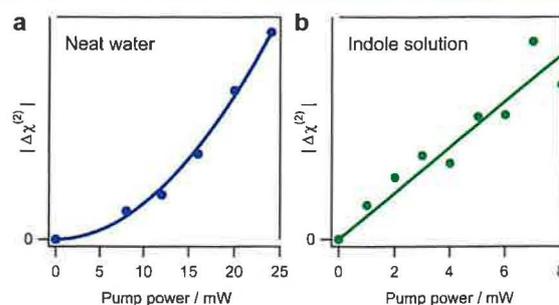
**Figure 3.** Time-resolved  $\text{Im } \Delta\chi^{(2)}$  spectra ( $\text{Im } \Delta\chi^{(2)}$ ) of the air/water interface. The spectrum at  $-0.2$  ps provides an estimate of the noise in our spectra. The spectra in the low and high wavenumber ranges were measured separately, and they are connected using the same scaling factor for all the delays.

spectral shape is observed, indicating that the time-resolved spectra are represented by only one component (Figure 4a). The temporal change of this transient is obtained by plotting the integrated intensity of the spectra at each delay, and it is depicted in Figure 4b. The transient component rises almost instantaneously and then shows a nonexponential decay on a 10 ps time scale. The intensity of the transient band is very high, and is comparable to the OH stretch band intensity in the steady-state spectrum. Actually, the transient signal appears without any noticeable bleach of the steady-state signal, which should give a positive broad bleach that is peaked around  $3450 \text{ cm}^{-1}$  and disappears below  $3100 \text{ cm}^{-1}$  as expected from the steady-state spectrum shown in Figure 2a. Furthermore, we did not observe any bleach signal due to the free OH band at  $3700 \text{ cm}^{-1}$  either, which should appear as a sharp negative band. The absence of the bleach signal implies that the observed transient signal originates from a very small number of water molecules. Thus, the time-resolved spectra clearly show that the UV pump light generates a transient species exhibiting a very large VSGF signal in the OH stretch region at the water surface.

In order to confirm that the transient species is generated by eq 1, we evaluated the pump power dependence of the transient signal intensity. Since eq 1 involves two-photon excitation, we expect a quadratic power dependence. The filled circles in Figure 5a show the experimentally determined



**Figure 4.** Analysis of the transient spectra at the air/water interface. (a) Spectrum averaged over all the delay time, (b) temporal change, and (c) assignment of the observed transient species.



**Figure 5.** Power dependence of the transient signal intensity, which was extracted by fitting the complex  $\Delta\chi^{(2)}$  spectra with a complex Lorentzian. (a) At the air/water interface. The intensity of the  $3260 \text{ cm}^{-1}$  band at the delay of  $0.2$  ps was evaluated. (b) At the air/indole solution interface. The intensity of the  $3230 \text{ cm}^{-1}$  band at the delay of  $10$  ps was evaluated.

intensity of the  $3260 \text{ cm}^{-1}$  band at each power, which was extracted by fitting the complex  $\Delta\chi^{(2)}$  spectrum with a complex Lorentzian function. The data points are fitted well with a quadratic function as shown by the solid curve, which is consistent with eq 1. We stress that this transient signal is not due to the heat generated by the two-photon absorption of the UV-pump light. The transient spectrum of the water interface due to the heating effect has been observed in IR-pump time-resolved HD-VSFG studies.<sup>20,24</sup> In such a case, the transient spectrum shows a negative band and a positive band in the high- and low-frequency parts of the OH stretch region, respectively. This spectral feature arises because the heat induces a temperature increase of the water surface, which weakens the hydrogen bonding of the interfacial water and gives rise to a high-frequency shift of the negative hydrogen-bonded OH stretch band. The intensity of this transient feature is rather low; it is less than 10% of the steady-state signal intensity. In sharp contrast, the transient spectra in Figure 3 only exhibit a clear positive band on a broad offset, and the spectral feature is completely different from the transient signal arising from the heating effect. Furthermore, the intensity of the observed transient signal is very high ( $(0.5-1) \times 10^{-22} \text{ m}^2 \text{ V}^{-1}$ , depending on the experimental condition), and it is comparable to the steady-state signal intensity, although it is expected that the two-photon absorption of the  $267 \text{ nm}$  pump light used in the present study is much less efficient than the one-photon absorption of the IR pump light used in the IR-pump time-resolved HD-VSFG study. Therefore, we can safely conclude that the transient signal observed in this study is not due to the sample heating but arises from transient species generated by the two-photon ionization of water.

As shown in eq 1, two-photon ionization of water generates not only an electron but also a hydroxyl radical (OH) and a hydronium cation ( $\text{H}_3\text{O}^+$ ). The contribution of the hydronium cation to the  $3260 \text{ cm}^{-1}$  band can be easily ruled out because the observed spectrum is clearly different from the broad negative spectrum of hydronium cation at the air/water interface reported in the literature.<sup>33</sup> In order to make an unambiguous assignment, we carried out a time-resolved HD-VSFG experiment at the air/indole aqueous solution interface as described in the next section. The experiment clearly shows that the transient band is attributable to the electron at the water surface, not to the hydroxyl radical.

**Air/Indole Solution Interface.** The steady-state  $\text{Im } \chi^{(2)}$  spectrum of the air/indole solution interface is shown in Figure 2b. The spectrum shows a high similarity to the spectrum of the air/water interface (Figure 2a), indicating that the orientation of water molecules at the interface is not drastically altered. Nevertheless, the observed bands are broader at the air/indole solution interface, suggesting that the interfacial water structure is perturbed to a certain extent by the indole molecules at this interface. More directly, a sharp negative band at  $\sim 3065 \text{ cm}^{-1}$  in the  $\text{Im } \chi^{(2)}$  spectrum is assigned to an aromatic CH stretch mode of indole,<sup>34</sup> indicating a substantial population of indole molecules at the surface. In fact, it is estimated from the surface pressure measurement that as many as  $\sim 5$  indole molecules exist within every  $1 \text{ nm}^2$  of the sample surface (Supporting Information). We note that the water molecules can contribute to the  $\text{Im } \chi^{(2)}$  spectrum even if they are located below indole molecules, provided that they have a particular alignment due to the anisotropic environment at the interface. The positive “free OH-like” band around  $3600 \text{ cm}^{-1}$  can arise from such water molecules because indole molecules do not have an OH group and the water molecules cannot form a hydrogen bond with them. Nevertheless, a small frequency shift or broadening of such an OH stretch band is expected due to the weak interaction between the OH group and indole molecules, and actually, the “free OH-like” band at the air/indole solution interface is broader than the free OH band at the air/water interface. Such a “free OH-like” band is often called a “hydrophobic” OH band in the literature.<sup>18,35</sup>

At this air/indole solution interface, the electrons are generated through the one-photon ionization of indole:<sup>5</sup>

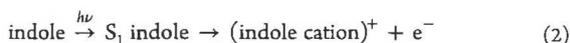
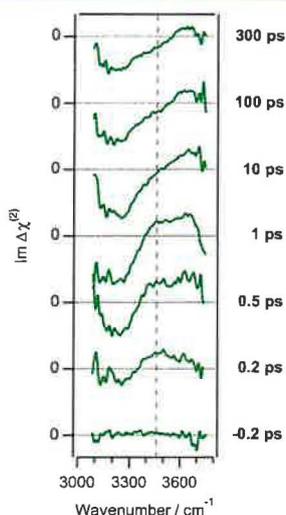


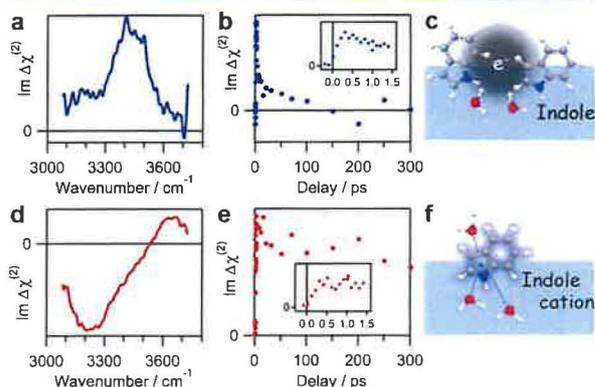
Figure 6 shows the UV-excited time-resolved interface-selective  $\text{Im } \Delta \chi^{(2)}$  spectra in the OH stretch region at the air/indole solution interface. In contrast to the simple transient spectra at the air/water interface, complicated transient spectra are observed: The spectra show a negative feature at around



**Figure 6.** Time-resolved  $\text{Im } \chi^{(2)}$  spectra ( $\text{Im } \Delta \chi^{(2)}$ ) of the air/indole solution interface. The spectrum at  $-0.2 \text{ ps}$  provides an estimate of the noise in our spectra. The broken line indicates the location of the quickly decaying band.

$3230 \text{ cm}^{-1}$  and a positive one at approximately  $3500 \text{ cm}^{-1}$ . Although the positive and negative features persist for more than  $300 \text{ ps}$ , the time-resolved spectra show a significant spectral change in the first  $100 \text{ ps}$ , i.e., the low-frequency side of the positive band disappears (as indicated by the broken line) and the band becomes much narrower. After this initial spectral change, the transient spectra show no further changes. This spectral change indicates that the time-resolved spectra are due to two transient species: the short-lifetime transient is depleted in the first  $100 \text{ ps}$  whereas the other remains at the interface for more than  $300 \text{ ps}$ .

Using singular value decomposition (SVD) analysis,<sup>36</sup> we determined the spectra and the temporal profiles of the two transient species as shown in Figure 7, panels a, b, d, and e.



**Figure 7.** Analysis of the transient spectra at the air/indole solution interface. (a,d) Spectra, (b,e) temporal changes, and (c,f) assignments of the short-lived and long-lived transient species, respectively, observed at the air/indole solution interface.

SVD is a mathematical technique to decompose a set of transient spectra into the linear combination of the products of spectral basis functions and temporal basis functions that are orthonormal to each other. This decomposition is a purely mathematical process and those basis functions do not have physical significance by themselves. However, we can convert them into physically meaningful spectra and temporal profiles of real chemical species by applying several assumptions that add physical significance to this analysis. Figure 7a,b,d,e shows the final results we obtained after this conversion. The details of the analysis are given in the Supporting Information.

The analysis clearly shows that the short-lifetime transient is depleted within  $100 \text{ ps}$  in a nonexponential manner (Figure 7b) whereas the long-lifetime transient does not show a significant decay up to  $300 \text{ ps}$  (Figure 7e). More importantly, the spectrum and the decay process of the short-lifetime transient (Figure 7a,b) highly resemble those at the air/water interface (Figure 4a,b): Both spectra show a positive and relatively narrow band, and the kinetics are almost identical. These similarities allow us to have a direct comparison between the two systems, and they strongly indicate that the two spectral components are assignable to the same transient species. To confirm that the transient species at the air/indole solution interface are generated by eq 2, we evaluated the pump power dependence of the intensity of the transient band in the same manner as for the air/water interface. As shown in Figure 5b, it exhibits a linear power dependence, which unambiguously indicates that the transient bands are due to the transient

species generated by one-photon ionization of indole. This means that the same transient species is generated by the two different reaction schemes at the air/water and air/indole solution interfaces. Because the electron is the only transient species that is generated in both of the schemes, the two transient bands, i.e.,  $3260\text{ cm}^{-1}$  at the air/water interface and  $3430\text{ cm}^{-1}$  at the air/indole solution interface, are attributed to the OH stretch vibration of the water molecules that directly interact with the electrons at the interface. This is reminiscent of the resonance Raman study of hydrated electrons in bulk water, where the OH stretch vibration of the water molecules that solvate the electrons is observed as a broad band centering at  $3170\text{ cm}^{-1}$ .<sup>37</sup>

We note that the frequency of the transient band assigned to the hydrated electrons is noticeably different between the air/water and air/indole solution interfaces. We consider that the difference is caused by the presence/absence of indole molecules at the interface. At the air/indole solution interface, the interaction between the electron and the water molecules is weakened by indole molecules, giving rise to a higher OH stretch vibrational frequency (Figure 7c). In fact, a theoretical study of the system comprised of indole, water, and electron suggests that not only water molecules but also indole molecules may exist in the first solvation shell of the electron.<sup>38</sup> Such indole molecules would perturb the distribution of the electron in the vicinity of the water molecules. Thus, it is reasonable that the indole molecules affect the strength of the interaction between electrons and water molecules, which results in the frequency shift of the OH stretch vibration. We also note that transient band is accompanied by a broad positive offset-like signal (Figure 4a and 7a). This broad feature may be caused by the vibrationally nonresonant and electronically resonant SFG of the hydrated electrons. Although the wavelength for the electronic transition of hydrated electrons at the interface is not known, it is possible that the signal due to the electronic transition is detected in the present measurement because the  $\omega_1$  and  $\omega_1 + \omega_2$  wavelengths are close to the electronic transition wavelength of the hydrated electron in bulk water at  $720\text{ nm}$ .<sup>2</sup> It is noted that an SHG study claims that they detected hydrated electrons at the air/water interface by probing the electronic transition at  $700\text{ nm}$ .<sup>12</sup>

Another transient species with a long lifetime is observed at the air/indole solution interface (Figure 7d,e). Because the decay of the short-lifetime transient (i.e., hydrated electrons) is not accompanied by the rise of this long-lifetime species, the two transients are independently generated at the interface. Remembering that the electron, the  $S_1$  indole, and the indole cation are generated at this interface (eq 2) and that the short-lifetime transient is ascribed to the hydrated electron, the long-lifetime component should be associated with the  $S_1$  indole or the indole cation. Actually, the transient spectrum of the long-lifetime species is similar to the steady-state spectra of air/water interfaces covered with a monolayer of cationic surfactant.<sup>17</sup> Therefore, this component is assignable to the water molecules interacting with the indole cations at the interface (Figure 7f).

**Electron Hydration at the Air/Water Interface.** Time-resolved interface-selective vibrational spectroscopy enabled us to measure the vibrational spectrum of the hydrated electrons at the air/water interface. By comparing this spectrum with the spectra of water anion clusters in the gas phase and of hydrated electrons in bulk water, we can discuss a molecular-level picture of the hydrated electrons at the water surface.

In the gas phase, water anion clusters have been intensively studied as a model of hydrated electrons.<sup>39</sup> Figure 8a shows the

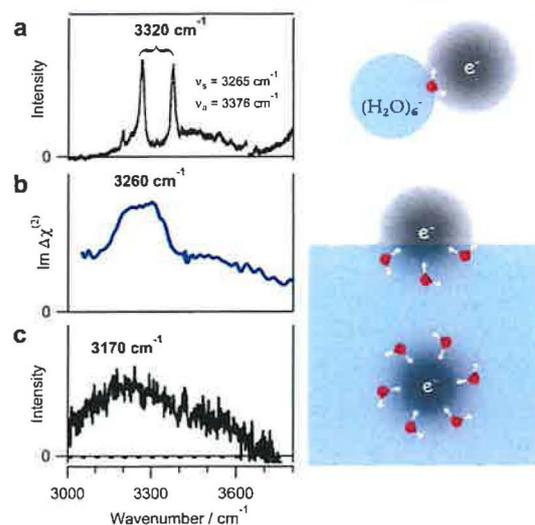


Figure 8. (a) IR spectrum of  $(\text{H}_2\text{O})_6^-$  cluster.<sup>40</sup> [Reprinted with permission from Hammer, N. L., et al. *J. Chem. Phys.* 2005, 123, 244311. Copyright 2005 AIP Publishing LLC.] (b)  $\text{Im } \Delta\chi^{(2)}$  spectrum of the hydrated electrons at the air/water interface obtained in this study. (c) Raman spectrum of the hydrated electrons in bulk water.<sup>37</sup> [Reprinted with permission from Mizuno, M.; Tahara, T. *J. Phys. Chem. A* 2003, 107, 2411. Copyright 2003 American Chemical Society.]

IR spectrum of  $(\text{H}_2\text{O})_6^-$  clusters.<sup>40</sup> For this cluster, the theoretical calculation shows that the excess electron is hydrated by one water molecule at the cluster surface with two OH groups pointing toward the electron. Because the two OH groups of this water molecule are equivalent, the OH stretch modes mix and give rise to the symmetric stretch mode at  $3265\text{ cm}^{-1}$  and the antisymmetric stretch mode at  $3376\text{ cm}^{-1}$ . Thus, the intrinsic frequency of the individual OH stretch modes is estimated to be  $\sim 3320\text{ cm}^{-1}$ . On the other hand, in bulk water, it is considered that a hydrated electron consists of one electron and the surrounding (about four to six) water molecules that hydrate the electron.<sup>41,42</sup> Resonance Raman spectra of those hydrated electrons in bulk water have been measured,<sup>37,43–46</sup> and they show a very broad band centering around  $3170\text{ cm}^{-1}$  (Figure 8c).<sup>37</sup> This shows that the OH stretch frequency observed at the water surface in the present study ( $3260\text{ cm}^{-1}$ ) is located in between the frequencies in the gas phase ( $3320\text{ cm}^{-1}$ ) and liquid phase ( $3170\text{ cm}^{-1}$ ). The relationship between the OH stretch frequency and the degree of electron hydration is governed by two factors, i.e., spatial confinement and charge sharing. With higher degree of hydration, the electron is confined into a smaller region. Then, the higher charge density makes the OH group of water molecules interact more strongly with the electron, and the vibrational band shifts to lower frequency with respect to the vibrational frequency in the gas phase. On the other hand, higher degree of hydration also enables the charge of the electron to be shared by many water molecules. Then, because the charge experienced by each water molecule decreases, the band shifts to higher frequency as compared with the frequency in the gas phase. For the system consisting only of water

molecules and electrons, the observed OH stretch frequency is lower for the fully hydrated electrons in water (Figure 8c) than for the surface electrons in the gas phase (Figure 8a). This indicates that the former effect resulting from the spatial confinement of the charge is predominant. Therefore, the intermediate peak frequency ( $3260\text{ cm}^{-1}$ ) observed at the air/water interface (Figure 8b) is considered to indicate that the electrons at the air/water interface are more hydrated than in the gas phase cluster and less hydrated than in bulk water, implying that electrons at the water surface are partially hydrated. Assuming that the presence of an electron does not change the sign of the hyperpolarizability,  $\beta$ , for the OH stretch mode of water, the positive sign of the observed  $\text{Im } \Delta\chi^{(2)}$  band indicates that the water molecules solvating the electron have the hydrogen-up orientation.<sup>16</sup> Consequently, we obtain a picture of hydrated electrons at the water surface: electrons exist on top of the water surface, and they are partially hydrated from below (Figure 8).

We note that this picture of the hydrated electron at the water surface is consistent with the very high intensity of the transient OH stretch band we observed. Actually, intense OH stretch bands have been reported in the infrared spectra of small water anion clusters,  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$ .<sup>40</sup> As already mentioned, the excess electron is bound to the surface of the hydrogen-bond network of water molecules in those clusters, and one water molecule primarily interacts with the electron. The OH stretching motion of this water molecule significantly modulates the spatial distribution of the diffuse excess electron, which leads to a large change of the dipole moment and results in a very high infrared activity. In the VSGF process,  $\chi^{(2)}$  is proportional to the product of the infrared activity and the Raman activity. Because a large change of the electron spatial distribution can also induce a large change of the polarizability (i.e., Raman activity), it is expected that the OH stretch vibration of the water molecule interacting with the excess electron has very large  $\chi^{(2)}$ . Therefore, the intense transient OH stretch band in the  $\text{Im } \Delta\chi^{(2)}$  spectra is expected for partially hydrated electrons at the water surface because the spatial distribution of the electron, in particular the part of electron protruding into the air, can be largely modulated with the OH stretch vibration of the water molecules that interact with the electron.

The present study also shows that the hydrated electrons are not very stable at the interface and disappear from the interface within 100 ps (Figures 4b and 7b). Because the decay dynamics of the hydrated electrons are almost the same at the air/water and air/indole solution interfaces, and because the indole cations stay at the interface for a much longer time than the hydrated electrons (Figure 7e), the disappearance of the partially hydrated electrons is not due to the recombination between the electron and the cation. Rather, the partially hydrated electrons escape into the bulk water to become fully hydrated. This view is in excellent agreement with the conclusion obtained by a previous molecular dynamics (MD) simulation<sup>47</sup> which predicts that electrons at the water surface escape into the bulk on a 10 ps time scale. It is noteworthy that, in another MD simulation study, Uhlig et al. claim that the electrons are fully hydrated at the air/water interface.<sup>48</sup> However, the simulated electron distribution actually shows that some part of the electron distribution protrudes into the air, which means that the electrons are "partially hydrated" in our terminology.

## CONCLUSION

Using novel time-resolved and interface-selective vibrational spectroscopy, we obtained for the first time the vibrational spectrum of hydrated electrons at the air/water interface. Based on the obtained vibrational spectrum, we concluded that the electron at the water surface is only partially hydrated. Furthermore, we observed that this partially hydrated state of an electron is not very stable and that the electron escapes into bulk water within 100 ps to become fully hydrated.

Although the selective observation of short-lived transient species at liquid interfaces is an experimentally challenging task, we have demonstrated that UV-excited time-resolved HD-VSGF spectroscopy can achieve this. The application of this new method is not limited to hydrated electrons but can be utilized to study the dynamics of various chemical processes at liquid interfaces. UV-excited time-resolved HD-VSGF spectroscopy is a promising technique that provides new insights into interfacial chemical reactions.

## ASSOCIATED CONTENT

### Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/jacs.6b02171.

Supplementary discussion, including figures and equations (PDF)

## AUTHOR INFORMATION

### Corresponding Author

\*tahei@riken.jp

### Present Addresses

<sup>1</sup>K.M.: Max Planck Institute for the Science of Light, Günther-Scharowsky-Straße 1, 91058 Erlangen, Germany

<sup>11</sup>R.K.: Nuclear Science and Engineering Center, Japan Atomic Energy Agency (JAEA), Tokai-mura, Ibaraki 319-1195, Japan

<sup>12</sup>S.Y.: Department of Applied Chemistry, Graduate School of Science and Engineering, Saitama University, 255 Shimo-Okubo, Sakura-ku, Saitama 338-8570, Japan

### Notes

The authors declare no competing financial interest.

## ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by JSPS KAKENHI Grant numbers JP24245006, JP25104005. R.K. acknowledges the Special Postdoctoral Researchers (SPDR) program of RIKEN.

## REFERENCES

- (1) Hart, E. J.; Boag, J. W. *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, *84*, 4090.
- (2) Nikogosyan, D. N.; Oraevsky, A. A.; Rupakov, V. I. *Chem. Phys.* **1983**, *77*, 131.
- (3) Alfano, J. C.; Walhout, P. K.; Kimura, Y.; Barbara, P. F. *J. Chem. Phys.* **1993**, *98*, 5996.
- (4) Shi, X.; Long, F. H.; Lu, H.; Eisenthal, K. B. *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 11903.
- (5) Peon, J.; Hess, G. C.; Pecourt, J.-M. L.; Yuzawa, T.; Kohler, B. *J. Phys. Chem. A* **1999**, *103*, 2460.
- (6) Laenen, R.; Roth, T.; Laubereau, A. *Phys. Rev. Lett.* **2000**, *85*, 50.
- (7) Kambhampati, P.; Son, D. H.; Kee, T. W.; Barbara, P. F. *J. Phys. Chem. A* **2002**, *106*, 2374.
- (8) Larsen, R. E.; Glover, W. J.; Schwartz, B. J. *Science* **2010**, *329*, 65.
- (9) Turi, L.; Rosky, P. J. *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 5641.
- (10) Garrett, B. C.; Dixon, D. A.; Camaioni, D. M.; Chipman, D. M.; Johnson, M. A.; Jonah, C. D.; Kimmel, G. A.; Miller, J. H.; Rescigno, T. N.; Rosky, P. J.; Xantheas, S. S.; Colson, S. D.; Laufer, A. H.; Ray,

- D.; Barbara, P. F.; Bartels, D. M.; Becker, K. H.; Bowen, K. H.; Bradforth, S. E.; Carmichael, I.; Coe, J. V.; Corrales, L. R.; Cowin, J. P.; Dupuis, M.; Eissenthal, K. B.; Franz, J. A.; Gutowski, M. S.; Jordan, K. D.; Kay, B. D.; LaVerne, J. A.; Lymar, S. V.; Madey, T. E.; McCurdy, C. W.; Meisel, D.; Mukamel, S.; Nilsson, A. R.; Orlando, T. M.; Petrik, N. G.; Pimblott, S. M.; Rustad, J. R.; Schenter, G. K.; Singer, S. J.; Tokmakoff, A.; Wang, L.-S.; Zwier, T. S. *Chem. Rev.* **2004**, *105*, 355.
- (11) Siefertmann, K. R.; Liu, Y.; Lugovoy, E.; Link, O.; Faubel, M.; Buck, U.; Winter, B.; Abel, B. *Nat. Chem.* **2010**, *2*, 274.
- (12) Sagar, D. M.; Bain, C. D.; Verlet, J. R. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 6917.
- (13) Buchner, F.; Schultz, T.; Lubcke, A. *Phys. Chem. Chem. Phys.* **2012**, *14*, 5837.
- (14) Nihonyanagi, S.; Mondal, J. A.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2013**, *64*, 579.
- (15) Shen, Y. R. *Annu. Rev. Phys. Chem.* **2013**, *64*, 129.
- (16) Nihonyanagi, S.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Chem. Phys.* **2009**, *130*, 204704.
- (17) Nihonyanagi, S.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 6867.
- (18) Mondal, J. A.; Nihonyanagi, S.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 7842.
- (19) Nihonyanagi, S.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 6155.
- (20) Nihonyanagi, S.; Singh, P. C.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2012**, *85*, 758.
- (21) Singh, P. C.; Nihonyanagi, S.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Chem. Phys.* **2012**, *137*, 094706.
- (22) Singh, P. C.; Nihonyanagi, S.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Chem. Phys.* **2013**, *139*, 161101.
- (23) Singh, P. C.; Nihonyanagi, S.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Chem. Phys.* **2014**, *141*, 18C527.
- (24) Inoue, K.; Nihonyanagi, S.; Singh, P. C.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Chem. Phys.* **2015**, *142*, 212431.
- (25) Xiong, W.; Laaser, J. E.; Mehlenbacher, R. D.; Zanni, M. T. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2011**, *108*, 20902.
- (26) Laaser, J. E.; Skoff, D. R.; Ho, J.-J.; Joo, Y.; Serrano, A. L.; Steinkruger, J. D.; Gopalan, P.; Gellman, S. H.; Zanni, M. T. *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 956.
- (27) Hsieh, C.-S.; Okuno, M.; Hunger, J.; Backus, E. H. G.; Nagata, Y.; Bonn, M. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2014**, *53*, 8146.
- (28) Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Chem. Phys.* **2008**, *129*, 101102.
- (29) Nihonyanagi, S.; Ishiyama, T.; Lee, T.-k.; Yamaguchi, S.; Bonn, M.; Morita, A.; Tahara, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 16875.
- (30) Nihonyanagi, S.; Kusaka, R.; Inoue, K.; Adhikari, A.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Chem. Phys.* **2015**, *143*, 124707.
- (31) Ji, N.; Ostroverkhov, V.; Tian, C.; Shen, Y. *Phys. Rev. Lett.* **2008**, *100*, 096102.
- (32) Yamaguchi, S. *J. Chem. Phys.* **2015**, *143*, 034202.
- (33) Tian, C.; Ji, N.; Waychunas, G. A.; Shen, Y. R. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 13033.
- (34) Majoube, M.; Vergoten, G. *J. Raman Spectrosc.* **1992**, *23*, 431.
- (35) Ma, G.; Chen, X.; Allen, H. C. *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 14053.
- (36) Yamaguchi, S.; Hamaguchi, H. *J. Chem. Phys.* **1998**, *109*, 1397.
- (37) Mizuno, M.; Tahara, T. *J. Phys. Chem. A* **2003**, *107*, 2411.
- (38) Jalbout, A. F.; Hall, C. S.; Adamowicz, L. *J. Chem. Phys.* **2003**, *118*, 10541.
- (39) Neumark, D. M. *Mol. Phys.* **2008**, *106*, 2183.
- (40) Hammer, N. I.; Roscioli, J. R.; Bopp, J. C.; Headrick, J. M.; Johnson, M. A. *J. Chem. Phys.* **2005**, *123*, 244311.
- (41) Kevan, L. *Acc. Chem. Res.* **1981**, *14*, 138.
- (42) Jacobson, L. D.; Herbert, J. M. *J. Chem. Phys.* **2010**, *133*, 154506.
- (43) Mizuno, M.; Tahara, T. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 8823.
- (44) Mizuno, M.; Yamaguchi, S.; Tahara, T. *J. Phys. Chem. A* **2005**, *109*, 5257.
- (45) Tauber, M. J.; Mathies, R. A. *J. Phys. Chem. A* **2001**, *105*, 10952.
- (46) Tauber, M. J.; Mathies, R. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 1394.
- (47) Madarasz, A.; Rossky, P. J.; Turi, L. *J. Chem. Phys.* **2007**, *126*, 234707.
- (48) Uhlig, F.; Marsalek, O.; Jungwirth, P. *J. Phys. Chem. Lett.* **2013**, *4*, 338.

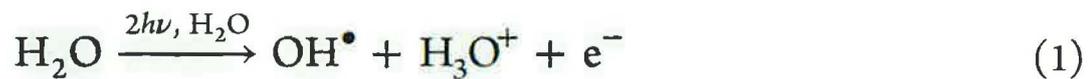
## 2 ページ目

このセットアップでは、市販の Ti:サファイア再生増幅器（スペクトラフィジクス、Spitfire Ace）を、1kHz の繰り返し周波数で 800nm のパルス（5mJ、80fs）を発生する励起光として用いた。

時間分解測定では、再生増幅器出力の残りの 2mJ が 267nm の UV ポンプ光 ( $\omega_{\text{pump}}$ ) に変換された。この過程で、800nm の基本光は、まず  $\beta$ -ホウ酸バリウム (BBO) 結晶 (CASTECH 社製、タイプ I、厚さ 1mm) で 400nm の第二高調波光に変換される。

次に、別の BBO 結晶 (CASTECH、タイプ I、厚さ 1mm) で基本波と第二高調波ビームの和周波混合により、267nm の第三高調波光を発生させた。この際、二つのビームの時間的重なりを最適化した。このようにして発生した UV ポンプ光は、平凸レンズ ( $f = 350\text{mm}$ ) を用いて、入射角  $25^\circ$ 、P 偏光で試料表面に集光され、ポンプ光による  $\chi(2)$  の変化 ( $\Delta \chi(2)$ ) が過渡スペクトルとして評価された。

試料表面に 267 nm のポンプ光を照射すると、水の二光子イオン化によって電子が発生し、

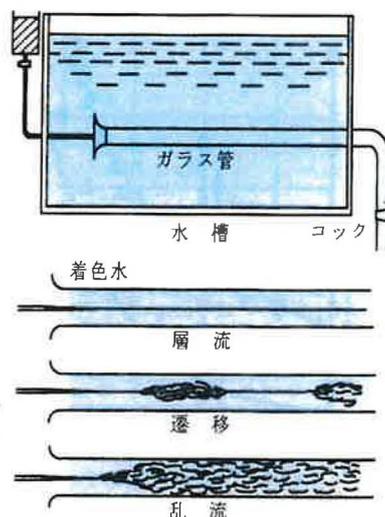


## 6章 管内流れの基礎と流体摩擦損失

ベルヌーイの式は流体粘性に基づくエネルギー損失が極めて小さい場合は使えるが、正確にはエネルギー損失を考慮する必要がある。この章ではエネルギー損失の一形態である直管内を流れる流体と管壁との流体摩擦によるエネルギー損失の評価法を述べる。

### 6.1 層流と乱流 (laminar flow and turbulent flow)

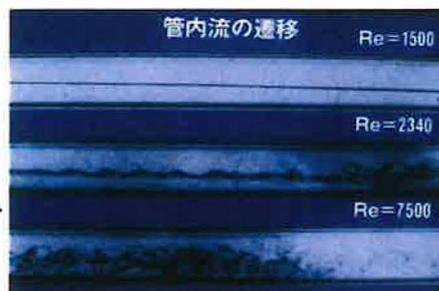
上記の評価法は、流れが層流であるか乱流であるかによって異なる。レイノルズ (Reynolds) は、二つの流れの出現条件を明らかにすべく、右に示す装置の cock を少しずつ開いて管内の平均速度  $v$  ( $=4Q/\pi d^2$ ) を次第に増し、細管から着色水を注入して流れの様子を観察した。



その結果、次式で定義されるレイノルズ数が  $Re_c \cong 2300$  (臨界レイノルズ数あるいは低臨界レイノルズ数と呼ぶ) を超えると流れは乱れて不規則な挙動をする乱流に遷移することを発見した。

$$Re = \frac{\rho v d}{\mu} = \frac{v d}{\nu} \quad (6.1)$$

ここで、 $\rho$  は密度、 $d$  は管直径、 $\mu$  は粘性係数、 $\nu$  は動粘性係数である。



### 6.2 レイノルズ数の物理的意味

レイノルズ数は流体に働く慣性力 (質量  $\times$  加速度なので、 $\rho L^3 v / T = \rho L^2 v^2$  に比例) と粘性力 (面積  $\times$  摩擦応力なので、 $L^2 \mu v / L = L \mu v$ ) の比を表わす。ただし、 $L$  と  $T$  は代表長さ と 代表時間 である。

$$Re = \frac{\rho L^2 v^2}{L \mu v} = \frac{\rho L v}{\mu} = \frac{v L}{\nu} \quad (6.3)$$

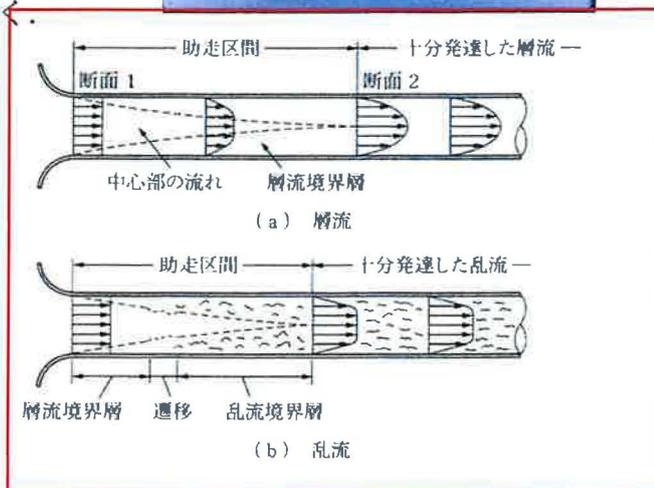
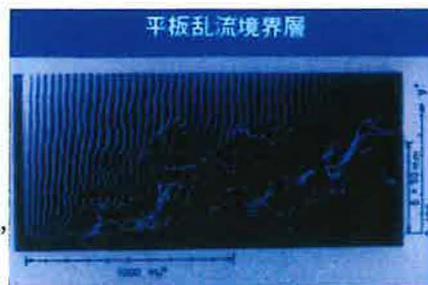
レイノルズ数は、層流・乱流の判断だけでなく、物体周りなど、粘性流体の流れを解析する上で極めて重要な無次元数である。

### 6.3 助走区間の流れ

流れが壁面摩擦の影響を受けると、壁の近くで速度が遅くなる領域、(Boundary layer) が発生する。境界層内の速度は壁に接する位置で零であり、壁から離れるにつれて大きくなり次第に境界層外の速度に近づく。

そして、境界層は下流に向かってつれて厚くなる。

管内流では右の図と写真に示すように境界層はやがて管中心まで達する。管入口からその地点までを入口区間と呼び、その区間内の断面内の速度分布は下流に向かうにつれて変化するので発達流れ (Developing flow) と呼ぶ。



助走区間を過ぎたら速度分布は下流方向に不変となり、した流れ (Fully developed flow) となる。

乱流における境界層は、入口付近は境界層であるが、遷移域を経て境界層へと変化していく。詳しくは12章に書いてあるが、乱流境界層内であっても壁に接した薄い領域は層流状であり底層 (Viscous sub-layer) や底層 (Laminar sub-layer) と呼ぶ。

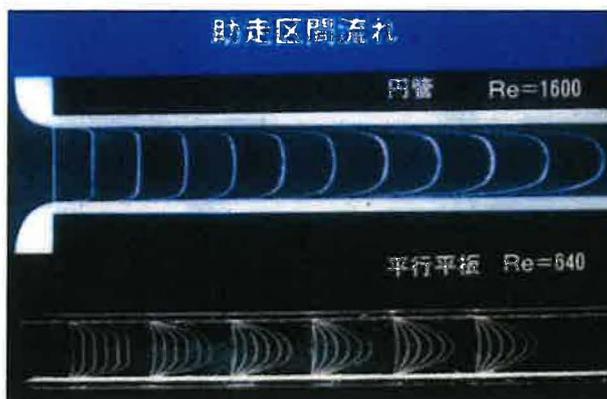
助走区間の長さは、層流では

$$L_i / d \approx 0.06 Re \quad (6.4)$$

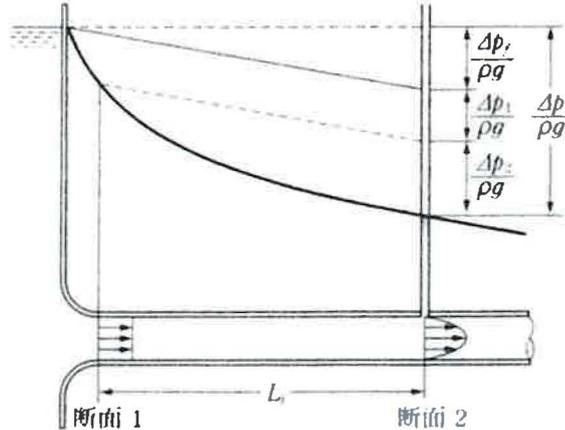
乱流ではReには依らずに

$$L_i / d \approx 25 \sim 40 \quad (6.5)$$

と報告されている。



助走区間における圧力の低下は、右に示すように入  
口付近で急激であり、発達した流れにおける一定した勾配に徐々に近づいて行く。それは、壁面における速度勾配が下流に向かうにつれて次第に小さくなるからである。



### 6.4 摩擦損失

下流方向の圧力エネルギーの低下は、発達した流れでは流体-壁間の単位時間当たりの  $\tau_0 \times \pi d \Delta l \times v$  (摩擦損失動力とも呼ばれる) によって生じる。

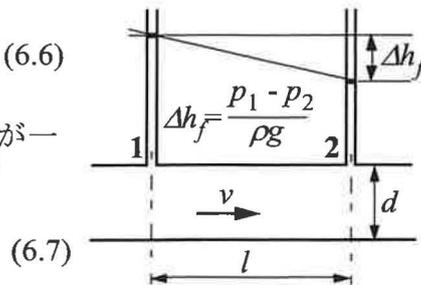
摩擦による圧力エネルギーの低下は  $(p_1 - p_2)/l$  は発達した流れでは一定である。と呼ばれ、その勾配

なお、 $\tau_0$  = 仕事率 =  $\tau_0 \times \pi d \times v$  であり、 $W = J/s$ の単位を持つ。

摩擦損失を考慮したエネルギー保存式は次式である。

$$\frac{p_1}{\rho g} + \frac{v_1^2}{2g} + z_1 = \frac{p_2}{\rho g} + \frac{v_2^2}{2g} + z_2 + \Delta h_f \quad (6.6)$$

ここで、流れが水平方向で、管断面積が一定であれば、 $z_1 = z_2$ ,  $v_1 = v_2$ であるので



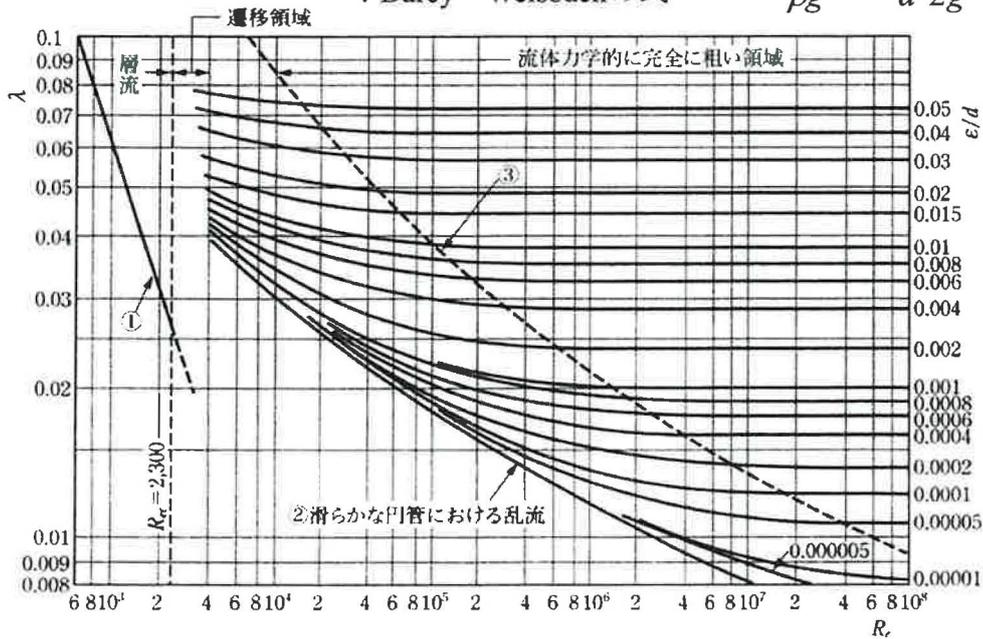
となる。この  $\Delta h_f$  は摩擦損失ヘッドと呼ばれ、管の直径  $d$  と壁の粗さ  $\epsilon$  だけでなく、流れが層流であるか乱流であるかによって、速度  $v$  の増加に伴う増加の度合いが異なる。すなわち、層流では  $\Delta h_f \propto v$  に比例し、乱流では  $\Delta h_f \propto v^{1.75}$  に比例する。

流量が  $Q$  で摩擦損失が  $\Delta p_f (= \rho g \Delta h_f)$  の流れを流すためには、次式で与えられる  $P$  を流体に与える必要がある。

$$P = \Delta p_f Q = \rho g \Delta h_f Q \quad [W = J/s] \quad (6.8)$$

6.5 ムーディ線図

摩擦損失ヘッドの評価  
 : Darcy - Weisbachの式  $\Delta h_f = \frac{\Delta p_f}{\rho g} = \lambda \frac{l}{d} \frac{v^2}{2g}$



摩擦損失ヘッドは とワイズバッハ (Darcy - Weisbach) の式で計算できる.

$$\Delta h_f = \frac{\Delta p_f}{\rho g} = \lambda \frac{l}{d} \frac{v^2}{2g} \quad (6.9)$$

ここで、 $l$ は管の長さ、 $d$ は管の直径、 $v$ は断面平均速度であり、 $\lambda$ は管摩擦係数である.

$\lambda$ は、一般的にはレイノルズ数 $Re = \rho v d / \mu$ と壁の相対粗さ $\epsilon/d$ に基づいて、線図を使って求める. しかし、 $Re < 2300$ の層流では、7章に記載の次の理論式で求めることができる.

$$(6.10)$$

この式は壁の粗さ $\epsilon$ の有無に依らず使用できる.

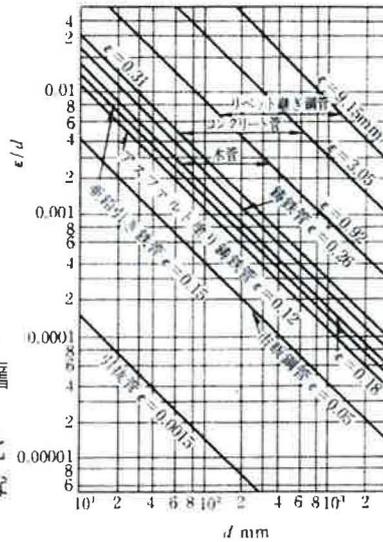
では $\lambda$ はレイノルズ数だけでなく壁の相対粗さ $\epsilon/d$ に依存するが、壁が流体力学的に滑らか (粗さ $\epsilon$ が乱流における粘性底層の厚さよりも小さいという意味) であれば、

$$1/\sqrt{\lambda} = 2.0 \log_{10}(\text{Re}\sqrt{\lambda}) - 0.8 \quad (3 \times 10^3 < \text{Re} < 3.2 \times 10^6) \quad (6.11)$$

$$\lambda = 0.3164/\text{Re}^{0.25} \quad (3 \times 10^3 < \text{Re} < 10^5) \quad (6.12)$$

などで求めることができる。式(6.11)は対数速度分布から導かれており - Nikuradseの式などと呼ばれるが、 $\text{Re}$ を与えて $\lambda$ を陽的に求めることができない欠点がある。そこで、指数法則速度分布から導かれた式(6.12)の式が使われることが多い。Blasiusの式を使うと、 $\Delta h_f$ は式(6.9)より $v^{1.75}$ に比例することが分かる。

ムーディ線図において曲線③よりも上の完全に領域では、粗さ $\epsilon$ が粘性底層よりも桁違いに大きいので $\lambda$ は $\text{Re}$ に依らずに $\epsilon/d$ のみで決まり、 $\Delta h_f$ は式(6.9)より $v^2$ に比例することが分かる。 $\epsilon$ は管の作り方で異なり、 $\epsilon/d$ は右図で求めると便利である。



米国や英国では上記の $\lambda$  (ダルシー摩擦係数) の代わりに式(6.15)で定義される摩擦係数が使われることが多い。

$$\tau_w = f \frac{\rho v^2}{2} \quad (6.15), \quad \lambda = 4f \quad (6.16)$$

ここで、 $\tau_w$ は壁面せん断応力である。図6.3における1-2間の流体に働く圧力差による $\Delta p_f(\rho d^2/4)$ は壁面摩擦によるとつりあうので、次式が成り立つ。

$$\tau_w = \frac{d}{4} \frac{\Delta p_f}{l} \quad (6.17), \quad (6.18)$$

### 6.6 円形以外の断面を持つ管内の流れ

(6.23)

(ただし、 $m$ は流体平均深さ、 $A$ は断面積、 $w$ は濡れ縁長さ)

で定義されるを用いると、摩擦損失は近似的には円管と同様な方法で求めることができる。しかし、特に層流の場合はその方法では誤差が出るので、  
・ストークスの方程式を数値解析などで解いて求めたより正確な値を用いることが望ましい。

## NMR における同位体ラベル法

甲斐荘 正恒 東京都立大学理学部

核磁気共鳴 (NMR) スペクトルは生体関連物質の構造化学的研究手法として、最近ますますその重要性を高めつつある<sup>(1)</sup>。かつては問題とされた試料の状態の制約は大きく改善され、通常の均一な溶液以外でも結晶、粉末、あるいは生体そのものにいたるまでの多種多様な試料が日常的に対象とされるようになった。広く知られたもう一つの欠点である感度の低さは、相変わらず満足からは程遠いといえるものの、超電導ソレノイド磁石を用いる高磁場 NMR の発展にも助けられ、他の多くの分光学的手法と比べ著しく劣るとは必ずしもいえないようになってきている。

このように測定の原理的問題が次第に緩和されてくると、従来はともすれば生化学的重要性や興味に優先して NMR スペクトルの測定、解析の容易さをめやすとして選ばれがちであった研究対象も、根本的な見直しの時期にさしかかっているといえよう。本稿でとりあげる同位体ラベル法はまさにこの時点において、決定的に重要な役割を果たすことが期待される手法である。

生物化学的応用に重要な同位体は表 1 にまとめた。これらのうちで、核スピンの  $1/2$  の  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{31}\text{P}$  は

表 1 基本的な元素の同位体分布と核スピンの性質\*

核種	スピン	天然同位体存在比	共鳴周波数 (MHz)
$^1\text{H}$	$1/2$	99.985	100.0
$^2\text{H}$	1	$1.5 \times 10^{-3}$	15.35
$^{12}\text{C}$	—	98.89	—
$^{13}\text{C}$	$1/2$	1.11	25.14
$^{14}\text{N}$	1	99.63	7.22
$^{15}\text{N}$	$1/2$	0.37	10.13
$^{16}\text{O}$	—	99.76	—
$^{17}\text{O}$	$5/2$	$3.7 \times 10^{-2}$	13.56
$^{18}\text{O}$	—	0.204	—
$^{31}\text{P}$	$1/2$	100.0	40.48

\* FT-NMR 演習 (I), 化学の領域, 34, 75 (1980).

生体構成元素としても重要なものであり、NMR の測定対象として最も多くとりあげられる。 $^2\text{H}$  はその NMR 自体も独特の構造情報を与えるが、重水素化に伴うスペクトル変化を利用して  $^1\text{H}$ -,  $^{13}\text{C}$ -NMR の解析に盛んに用いられる。 $^{17}\text{O}$ ,  $^{18}\text{O}$  などは同位体効果による化学シフト変化を利用する独特の手法に有用である。NMR スペクトルから得られる構造化学的情報は、これらの原子の分子内、分子間における相対位置、電子状態、運動性に関するものである。したがって、同位体ラベルによる研究のアプローチは、対象とする分子の望みの部位について、望みの性質の情報を如何にして能率よく得ることができるかを模索することになる。本セミナーにおいては紙数も限られているので、蛋白質と核酸に関する研究手法を例にとり、NMR における同位体ラベル法の発想の原点のようなものを述べたいと思う<sup>(1~3)</sup>。

### 蛋白質の構造研究への利用

蛋白質は約 20 種類のアミノ酸残基からなる高分子物質であるから、必然的に複雑に重なり合った NMR スペクトルを与える<sup>(4)</sup>。比較的分子量の小さい ( $>20,000$ ) 蛋白質であっても、それらの NMR スペクトルは数百種類の異なった化学シフトを持つ核に由来している。 $^1\text{H}$ -NMR スペクトルにおいては、それらは互いの間のスピン結合により分裂し、さらに複雑となる。 $^{13}\text{C}$ -,  $^{15}\text{N}$ -NMR スペクトルにおいても、スピン結合は  $^1\text{H}$ -デカップリングによって除かれるが、やはりスペクトルは複雑に重なり合っている<sup>(4)</sup>。この場合は  $^{13}\text{C}$ -,  $^{15}\text{N}$ -NMR の感度の低さもあり、蛋白質の構造研究へと至る道は平坦ではない。NMR スペクトルによる構造研究から得られる情報は精密ではあっても、本質的には局所的な情報である。単結晶の X 線回折においては、分子の全

体構造の精密化を進めるなかで、すべての局所的情報の精密化が同時に達成されるのに比べ、NMRの持つ構造情報が際立った特色を有するのはまさにこの点にある。一方、蛋白質の持つNMRスペクトルの特徴（シグナルの重なり）は、特定部位（たとえば活性部位など）に由来するシグナルの分離観測・帰属を著しく困難にする。明確な、しかも一般性の高いシグナルの観測・帰属手法の確立が最も重要とされるのはこの理由による。

本項では、蛋白質のNMRスペクトルからの情報抽出手法の確立をめざして展開された数多くの同位体ラベル法の応用のなかから、原理的に重要と考えられるいくつかを実例を中心に紹介する。これらのアプローチは、他の分光学的手法における同位体ラベル法がある一定のパターンとなるのに比べ、多彩を極める点に一つの特徴がある。このことは、一定の手法としてラベル法を紹介することを困難にするが、他方、NMRスペクトルにおける同位体ラベル法の応用が、目的によって、さらに独自の創造的手法の開拓へと発展する可能性を示唆するともいえよう。

### 1. 重水素化による<sup>1</sup>H-NMRスペクトルの単純化

重水素化により<sup>1</sup>H-NMRスペクトルを単純化しようとするアイディアは、蛋白質の<sup>1</sup>H-NMRスペクトルのあまりの複雑さに困惑していた20年程前に画期的な発

想として登場した<sup>(3)</sup>。原理そのものはむしろきわめて単純である。つまり、観測したい残基のシグナルを除いて、残りをすべて重水素化して<sup>1</sup>H-NMRスペクトル上から消去しようという手法である。軽水素(<sup>1</sup>H)と重水素(<sup>2</sup>H)とのNMR共鳴周波数がまったく異なることを利用した本法は、しかしながら実行は甚だ困難である。アイディアの主、Jardetzkyは、重水中で培養した緑藻類の菌体蛋白質（むろん完全に重水素化されている）の加水分解物を利用して微生物を培養し、望みの蛋白質を重水素化するというアプローチにより、本法を実際に応用した。

彼らは、観測したいアミノ酸に相当する“軽水素”アミノ酸を多量に培地中に添加することにより、選択的に“軽水素化された”重水素化ヌクレアーゼ(Staphylococcalヌクレアーゼ)を調製した<sup>(5)</sup>。図1はこのようにして調製された一群の選択的重水素化ヌクレアーゼのうち、芳香族アミノ酸部分の<sup>1</sup>H-NMRスペクトル解析に有用な一例を示す。通常のコクレアーゼ(a)と比べ、下図(b)は著しく単純となっていることがただちに理解できる。重水素化ヌクレアーゼではHis(C<sub>2</sub>H), Trp(C<sub>2</sub>H), Tyr(C<sub>2,6</sub>H)のみが観測にかかる。このように重水素化すると、蛋白質の<sup>1</sup>H-NMRスペクトルの重なりが解消できる以外にも種々の有利な点がある。たとえば、蛋白質-蛋白質、蛋白質-低分子物質(基質、阻害

剤、補酵素など)の相互作用を研究する際、蛋白質を重水素化することにより、相互作用の相手のスペクトルのみを観測することも可能となる。KatzとCrespiによるフラビン蛋白質の例は特に劇的である<sup>(6)</sup>。彼らは重水素中で培養した緑藻類から分離精製した“完全に”重水素化されたフラビン蛋白質を用いて、蛋白質との複合体を形成しているフラビンの<sup>1</sup>H-NMRシグナルを見事に観測した(図2)。

蛋白質NMRの発展の比較的初期に試みられたこの種の研究は、しかしながらその後は実験上の困難さのためにほとんど用いられていない。ただ、芳香環部分のみのシグナ

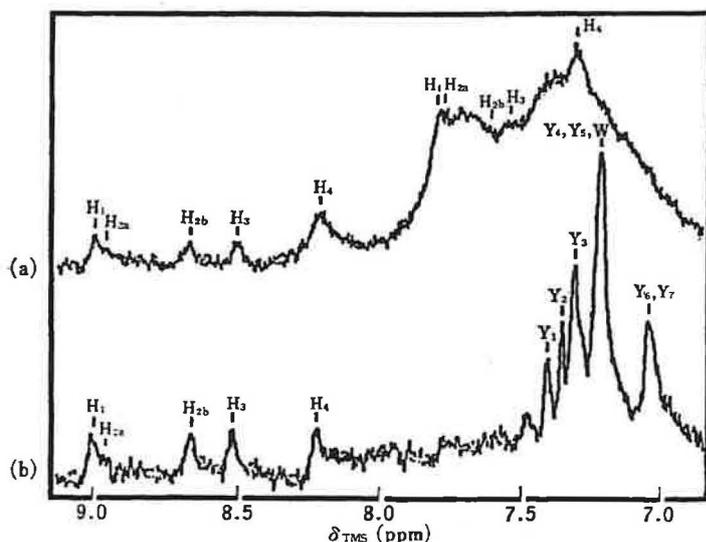


図1 Staphylococcalヌクレアーゼの芳香族領域の<sup>1</sup>H-NMRスペクトル(Markleyら, 1968)<sup>(5)</sup>

(a) 通常のコクレアーゼ, (b) 選択的重水素化したヌクレアーゼ  
帰属: His, H<sub>1</sub>~H<sub>4</sub> (低磁場側ピークはC<sub>2</sub>, 高磁場側ピークはC<sub>4</sub>イミダゾールプロトン); Tyr, Y<sub>1</sub>~Y<sub>7</sub> (2,6-プロトン); Trp, W (C<sub>2</sub>環プロトン)。

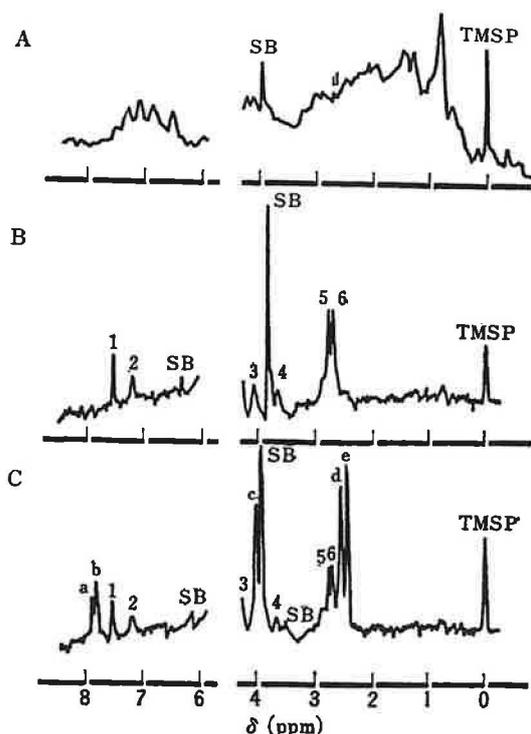


図2  $[^1\text{H}]$ -フラビヌクレオチドを結合させたフラビン蛋白質の  $^1\text{H}$ -NMR スペクトル

(A)  $[^1\text{H}]$ -フラビン蛋白質, (B)  $[^1\text{H}]$ -フラビン蛋白質, (C) (B)の試料に過剰量のフラビヌクレオチドを添加。帰属: 1, 2, イソアロキサジン環の6, 9位プロトン; 3, 4, リピチル基メチレン; 5, 6, 環メチルプロトン; a~e, 遊離のフラビヌクレオチドに由来

ルの単純化は、重水素化した His, Tyr, Trp, Phe が容易に合成できることからしばしば行なわれている<sup>(3)</sup>。微生物起源の蛋白質、すなわちジヒドロ葉酸還元酵素 (*L. casei*)<sup>(7)</sup>、SSI (*Str. albobrisesolus*) など<sup>(8)</sup>の他に、ウズラ卵白リゾチーム<sup>(9)</sup>についても適用されている。最後の例では、人工餌中に重水素化アミノ酸を混入することによりリゾチームの重水素化を行なっている。

## 2. $^{13}\text{C}$ -, $^{15}\text{N}$ -ラベルによる研究手法

蛋白質の  $^1\text{H}$ -NMR スペクトルを簡単なペプチドのスペクトルのように単純化することが可能であるという意味では、重水素化は大変有力な方法である。しかしながら、蛋白質にとってはごく一部にすぎない残基、あるいはリガンドとなる低分子量物質を研究するために、圧倒的に多量に存在しているそれら以外のシグナルをすべて消去するというアプローチは、本質的に効率の悪い方法である。この観点からすれば、 $^{13}\text{C}$  や  $^{15}\text{N}$  のように天然存在比の小さい核を選択的にラベルする手法は優れてい

る。この手法によれば、天然存在比のスペクトルでは互いに重なり合って複雑化している部分から、必要なシグナルの強度のみを際立って増大させることができる。

この種のアプローチは比較的多く試みられており、アルカリホスファターゼ (*E. coli*) の  $[\gamma\text{-}^{13}\text{C}]$ -His ラベル<sup>(10)</sup>、トリプトファン合成酵素の  $\alpha$ -サブユニット (*E. coli*) の  $[\text{C}_2\text{-}^{13}\text{C}]$ -His ラベルなど<sup>(11)</sup>微生物起源の蛋白質以外にも、マウスのヘモグロビンを  $[\text{C}_2\text{H-}^{13}\text{C}]$ -His ラベルした例<sup>(12)</sup>も報告されている。この場合は、 $\text{L-}[\text{C}_2\text{-}^{13}\text{C}]$ -His を添加した人工餌で12匹のマウスを65日飼育している。これらの例に共通する問題点は、観測されたシグナルの帰属にある。NMRのシグナルが構造化学的プローブとなりうるのは、正しい帰属が前提条件であり、単なるラベルによるシグナルの増大はカタログの効果しか生まないであろう。ラベル法として生合成に頼るならば、複数個含まれるアミノ酸残基はすべて均一にラベルされてしまう。ただし、1残基のみしか含まれていない残基については、帰属の問題が生じることはない。

微生物起源のセリンプロテアーゼ  $\alpha$ -lytic プロテアーゼには His がただ1つしか含まれておらず、当然のことながらこの His は活性部位を形成する catalytic triad の中央に位置するきわめて重要な残基である。Roberts らは、His のイミダゾール環を  $^{15}\text{N}$  ラベルした  $\alpha$ -lytic プロテアーゼの  $^{15}\text{N}$ -NMR 化学シフトの pH 変化 (図3) から、His の  $\text{p}K_a$  値を正確に決定した<sup>(13)</sup>。さらに、イミダゾール環に2個含まれる窒素 ( $\text{N}_\alpha$ ,  $\text{N}_\epsilon$ ) を選択的に  $^{15}\text{N}$  ラベルすることにより、プロトン化部位の決定も行なうことができた。このような詳細な知見は他の方法では得ることが困難と考えられる。彼らは *Lysobacter enzymogens* (*Myxobacter* 495) の His 要求株を誘導することにより、少量の  $[\text{}^{15}\text{N}]$ -His を用いて効率よく  $[\text{}^{15}\text{N}]$ -His ラベル  $\alpha$ -lytic プロテアーゼの調製に成功している。

生合成経路に頼らずに特定部位のアミノ酸を選択的に同位体ラベルする方法は、位置特異的にラベルが可能である点が特に優れている。蛋白質のポリペプチド鎖を化学的に合成することは困難であるが、RNase S' の S-ペプチド部分 (20-ペプチド) を種々  $^{13}\text{C}$ -ラベルし、詳細な  $^{13}\text{C}$ -NMR による研究を行なった例がある<sup>(14)</sup>。蛋白質自体の化学的ラベルは、いわゆる化学修飾用のラベル試薬を用いることにより可能であるが、本稿ではあくま

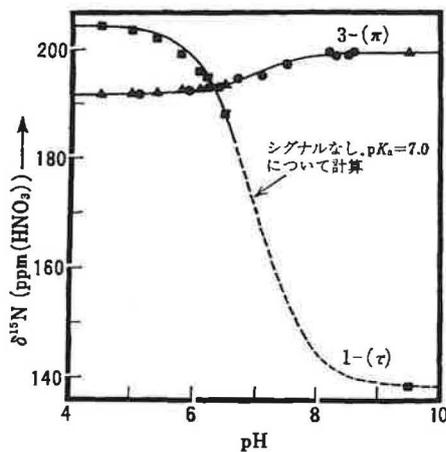
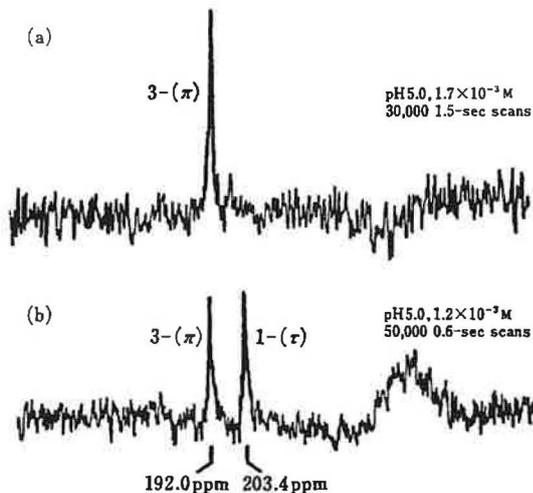


図3  $^{15}\text{N}$ -ラベル  $\alpha$ -lytic プロテアーゼの 18.2 MHz  $^{15}\text{N}$ -NMR スペクトル (Bachovchin, Roberts, 1978)<sup>(15)</sup>  $[\pi, \tau\text{-}^{15}\text{N}_2]\text{-His}$  (b),  $[\pi\text{-}^{15}\text{N}]\text{-His}$  (a). 下図は  $\alpha$ -lytic プロテアーゼの His  $^{15}\text{N}$  シグナルの化学シフトの pH 変化

で intact な構造を保ったままで同位体ラベルを行なう研究例だけに話を限る。

崎山, 中沢は, Trp をオゾン酸化して得られる *N*-ホルミルキヌレニンを  $\text{Na}^{13}\text{CN}$  処理することにより  $\text{C}_2$  位を  $^{13}\text{C}$  ラベルする手法を開発し, native な卵白リゾチームに 6 個含まれる Trp 残基に本法を適用した<sup>(15)</sup>. その結果 Trp-62 のみを選択的に  $^{13}\text{C}$  ラベルすることに成功し, しかもこの再生リゾチームは活性を含めて, あらゆる観点から intact な構造を保っていることを明らかにした. 図 4 に示すように,  $^{13}\text{C}$ -ラベルリゾチームは Trp-62 の  $\text{C}_2$  に相当する強い  $^{13}\text{C}$ -NMR シグナルを生じる. Trp-62 は活性部位に存在する重要な残基であるために, この  $^{13}\text{C}$ -シグナルを利用した詳細な構造研究への道が拓けたことになる. 残念ながら, このような化学

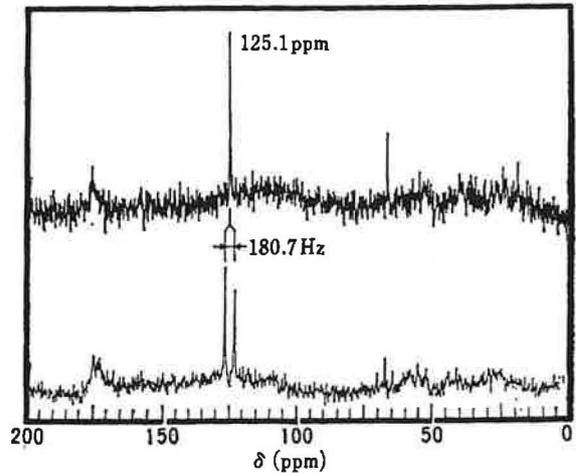


図 4 Trp-62 の  $\text{C}_2$  を選択的に  $^{13}\text{C}$  ラベルした卵白リゾチームの 50.1 MHz  $^{13}\text{C}$ -NMR スペクトル (中沢, 1982)<sup>(15)</sup>  $\text{p}^2\text{H}$  4.7, 37°C. 下図: シグナル測定中にデカップルしていないために  $J_{\text{CH}}$  が観測される. 上図:  $^1\text{H}$ -デカップルスペクトル

的ラベル手法はラベル部位を人為的にコントロールできない上に, 適用可能な蛋白質も限られるために, 一般性は乏しいといわざるをえない. Trp  $\text{C}_2$  位の他にも, Met の *S*-メチル基をラベルメチル基にすげ替える反応もよく用いられるが, Met 残基がその蛋白質中で重要な機能を果たすと考えられるケースへの適用例は乏しいと思われる<sup>(16)</sup>.

蛋白質とリガンドとの相互作用の研究という点からは, リガンドのラベルは価値が高い. すでにフラビン蛋白質の例にも紹介した通り, 巨大な蛋白質と相互作用をしている状態の低分子量物質を直接に研究しようとするならば,  $^{13}\text{C}$ -,  $^{15}\text{N}$ -ラベル法は効率がよい. 特に蛋白質の分子量が著しく巨大になると, 蛋白質自身の構造研究も著しく困難となる場合が多いので, 線幅が比較的鋭い  $^{13}\text{C}$ -,  $^{15}\text{N}$ -NMR シグナルは有用と思われる. 一例として, *E. coli* のグルタミン合成酵素の研究を紹介しよう<sup>(17)</sup>.

グルタミン合成酵素はサブユニット 12 個からなる分子量 60 万の巨大な蛋白質である. 各サブユニットの調節部位に Tyr を 1 残基含み, 主として Tyr のフェノール性水酸基を ATP によりアデニル化することにより, 機能制御を受けていることが知られている. このような巨大な蛋白質では, それ自身は詳しい NMR 研究の対象になりにくい. Villafranca らは, 2 位を 80%  $^{13}\text{C}$  ラベルした ATP を用い, 12 のサブユニットをすべて  $[\text{2-}^{13}\text{C}]\text{-AMP}$  化した<sup>(17)</sup>. このようにして得られたラベル酵

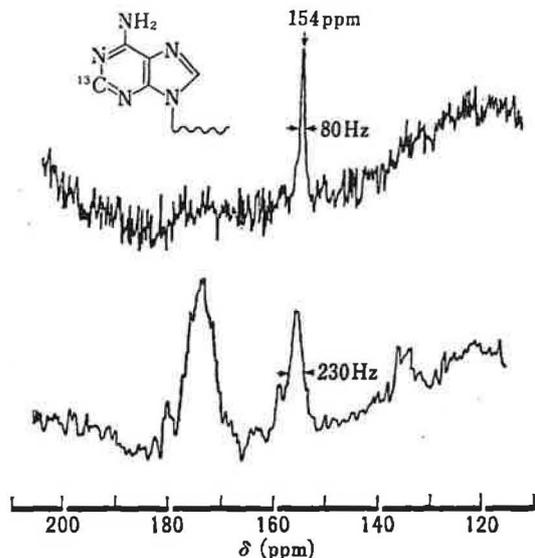


図5 [2-<sup>13</sup>C]-AMP-グルタミン合成酵素の<sup>13</sup>C-NMR スペクトル (Villafranca ら, 1978)<sup>(17)</sup> 67.9 MHz, 0.5 mm (<sup>13</sup>C-結合サブユニット濃度), pH 7.1. 下図は 1.0 mm の MnCl<sub>2</sub> を添加したもの, 線幅の顕著な増加が見られる.

素の<sup>13</sup>C-NMR スペクトルは, 明瞭にアデニン環の C<sub>2</sub> 位炭素に由来するシグナルを示した (図5). 彼らは, このシグナルをプローブとして, 2価金属イオン結合部位と AMP との相対的位置関係を明らかにした.

蛋白質の NMR スペクトルによる研究手法は, 観測されたシグナルの一般性のある帰属方法が存在してはじめてその真価を発揮できる. 次節に筆者らが最近開発した, <sup>13</sup>C-, <sup>15</sup>N-ダブルラベル法による蛋白質主鎖カルボニル<sup>13</sup>C-NMR の帰属手法について紹介する.

### 3. <sup>13</sup>C-, <sup>15</sup>N-ダブルラベル法による蛋白質主鎖カルボニルの帰属手法

蛋白性プロテアーゼインヒビター SSI (*Streptomyces subtilisin inhibitor*) は放線菌 *Streptomyces albogriseolus* s-3253) により生産される. この蛋白質はアミノ酸 113 個のサブユニット 2 個からなるダイマー性インヒビターであり, 微生物起源のアルカリプロテアーゼ (サブチリシンなど) を強く阻害する. SSI によるサブチリシンの活性阻害の分子機構は, プロテアーゼの作用機作の観点からも興味を持たれていたが, 2 個のサブユニットのそれぞれがサブチリシンと複合体を形成 (2:2 複合体) するので, 全体では 78,000 という大きな分子量となるために詳細な分光学的研究は困難であった. 複合体の X 線回折はきわめて重要な結果をもたらしたもの

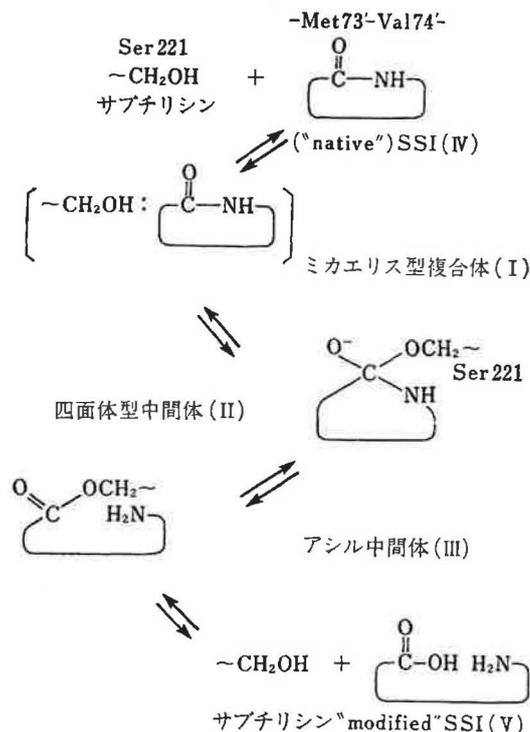


図6 サブチリシンの活性セリン (Ser-221) と, SSI の切断結合 (Met-73'-Val-74') との反応の模式図 (甲斐荘ら, 蛋白質核酸酵素, 1982)<sup>(18)</sup>

の, サブチリシンの活性セリン (Ser-221) の  $\gamma$ -水酸基と SSI の活性部位 (P1 サイト) Met-73' との最も関心の寄せられる局所的部位の精密な情報を得るには必ずしも最適の手法とはいえない<sup>(19)</sup>. Ser-221 と Met-73' の相互作用は図6の模式図のように基質の加水分解機構に準じて示すことができる. したがって, SSI の活性部位 Met-73' のなかでも, 特にカルボニル炭素の状態変化を把握することが NMR の重要な目的となることが理解できよう. このためには Met-73' のカルボニル炭素の<sup>13</sup>C-NMR シグナルをプローブとする研究手法が最も直接的情報をもたらすはずである.

幸いなことに, SSI は微生物起源の蛋白質であるから, 生合成的に Met のカルボニル炭素をラベルすることが可能である. 図7は, SSI の一次構造を表わしている. 113 個のアミノ酸のうち, Met は 73 番以外にも 70 番, 103 番の 2 箇所に存在しており, 単なる [1-<sup>13</sup>C]-Met ラベル SSI ([M]-SSI と略す) ではこれら 3 残基に相当する 3 本のカルボニル炭素シグナルを与えるが, それら相互の帰属はできない (図8-d). そこで, 3 個の Met の区別をアミノ酸配列に関連させて明瞭にすることを考えた<sup>(19)</sup>. ペプチド結合中, カルボニル基はアミド

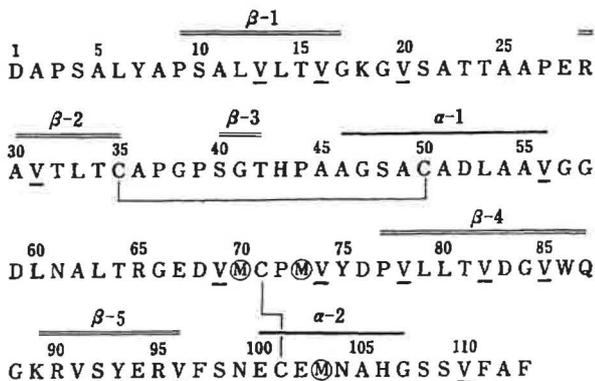


図 7 SSI の一次構造 (池中ら, 1974)

α, βはそれぞれX線回折によって決定されたα-らせん, β-シートを形成している部分. メチオニン, バリンに丸印と下線を付した (本文参照).

A: Ala, C: Cys, D: Asp, E: Glu, F: Phe, G: Gly, H: His, K: Lys, L: Leu, M: Met, N: Asn, P: Pro, Q: Gln, R: Arg, S: Ser, T: Thr, V: Val, W: Trp, Y: Tyr

窒素と直接結合しているが, *i* 番目の残基のカルボニル基と結合するのは (*i*+1) 番目の残基の α-アミノ基である. 通常は窒素は実質的にすべて <sup>14</sup>N であり, <sup>13</sup>C-<sup>14</sup>N 間のスピン結合は <sup>14</sup>N スピンの速い緩和のために観測にかからない. ところが, <sup>15</sup>N はスピンの速い緩和のために, アミド結合を介して直接結合したカルボニル <sup>13</sup>C シグナルとの間にスピン結合 ( $J \approx 16$  Hz) が観測される. したがって, SSI の培地に [<sup>13</sup>C]-Met と同時に [<sup>15</sup>N]-Val を添加することにより, これらにより二重にラベルされた SSI ([M, V]-SSI) を調製すれば, Met-73' のカルボニル <sup>13</sup>C シグナルのみに <sup>15</sup>N によるスピン結合が観測されることになる (図 8-a). まったく同様にして, [M, C]-SSI では Met-70', [M, B]-SSI (B は Asx) では Met-103' に <sup>15</sup>N-スピンの効果が観測されることが予想され, 事実図 8-b, c の結果は見事にこの予想を裏づけた.

このようにして Met-73' のカルボニルシグナルを観測し, かつアミノ酸配列に基づいて一義的に帰属する手法を確立することができた. この手法はいくつかの重要な特徴を持つ. 第一に, <sup>13</sup>C-, <sup>15</sup>N-ダブルラベルにより Met-73' 炭素をラベルしたのにとどまらず, Met-73'-Val-74' の“ペプチド結合をラベル”することができた点である. 図 6 に示すように, このペプチド結合 (切断結合と称される) は容易に開裂, 再結合を繰り返して特徴的であり, 複合体形成時での状態が切断結合を介してのスピン結合 ( $J_{CN}$ ) によってモニターすることができ

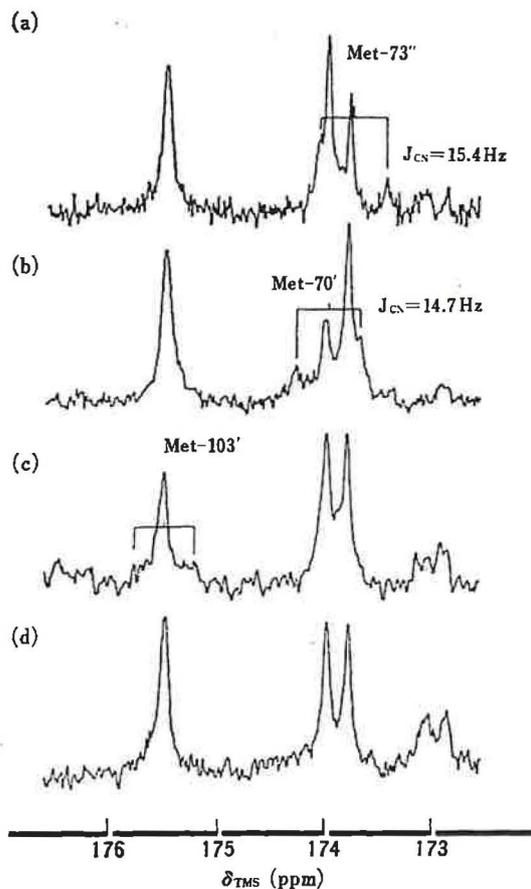


図 8 種々のラベル SSI のカルボニル <sup>13</sup>C-NMR スペクトル (25.2 MHz) (甲斐荘, 辻, 1982)<sup>(19)</sup>  
(a) [M, V]-SSI, (b) [M, C]-SSI, (c) [M, B]-SSI, (d) [M]-SSI. (略号については本文および図 7 の注を参照).

る. この問題についてはすでに詳しく述べた<sup>(18)</sup>.

第二に, メチオニン以外でもほとんどすべてのアミノ酸残基のカルボニル <sup>13</sup>C-シグナルの帰属が原理的には可能な点にある. 現在, 筆者らは SSI の主鎖カルボニル炭素の観測, 帰属を進め, 得られる種々の <sup>13</sup>C-NMR パラメーターを SSI の立体構造との関連について詳細に調べている. このような研究のゴールは, アミノ酸配列知識のみを必要な前提知識として帰属される主鎖カルボニルシグナルから蛋白質の主体構造を推定する新しいストラテジーの確立にある.

第三に, 主鎖カルボニル <sup>13</sup>C シグナルを側鎖シグナルと何らかの関連をつけることにより, 帰属を拡張できる点である. たとえば, 多重ラベル (均一に <sup>13</sup>C-ラベルしたアミノ酸など) を用いれば, <sup>13</sup>C-<sup>13</sup>C, <sup>13</sup>C-<sup>1</sup>H などのスピン結合によりカルボニル <sup>13</sup>C-NMR の帰属と側鎖シグナルとを関連づけられるであろうし, 側鎖の構造変

化, たとえば pH による解離基の状態変化や化学修飾によるカルボニルシフト変化などを利用することも有用である. このように,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{13}\text{C}$ -ダブルラベル法を中核として他の諸技法を組み合わせることにより, 蛋白質の構造研究への新しい研究手法の体系が生まれることが期待される<sup>(20)</sup>.

### 核酸関連物質の構造研究への利用

$^1\text{H}$ -NMR による核酸関連物質の構造研究は, 主として水溶液中で低磁場 (10~15 ppm) に観測される塩基のイミノプロトンをプローブとして行なわれる<sup>(1)</sup>. このような低磁場イミノプロトンはウラシル (U) の  $\text{N}_3\text{H}$ , グアニン (G) の  $\text{N}_1\text{H}$  に由来するが, この2種類のイミノプロトンの帰属は A·U 塩基対と G·C 塩基対を区別する必要からきわめて重要と考えられている. Poulter, 西村ら<sup>(21)</sup> は, 選択的に  $\text{N}_3$  を  $^{15}\text{N}$  ラベルした *E. coli*  $\text{tRNA}_{\text{P}}^{\text{Met}}$  を生合成的に調製することにより, ウラシル関連塩基のイミノプロトンの帰属を一義的に確定することができた. 通常の塩基のイミノプロトンは  $^{14}\text{N}$  と結合しており, スピン結合を示さないが, 特異的に  $\text{N}_3$  をラベルしたウラシルではスピン結合定数が 90 Hz のダブルレットを与える. 図 9-A は  $^{15}\text{N}$  ラベルした  $\text{tRNA}_{\text{P}}^{\text{Met}}$  の 360 MHz  $^1\text{H}$ -NMR スペクトルである.  $^{15}\text{N}$  ラベルによりウラシルおよび生合成的にウラシルに由来する修飾塩基のイミノプロトンのみにスピン結合が観測される. 選択的に  $^{15}\text{N}$  核を照射してデカップリング ( $^{15}\text{N}$ -H による分裂がなくなる) したスペクトルと通常のスぺクトルの差 (B, C) をとれば, 各イミノプロトンと直接結合している  $^{15}\text{N}$  の化学シフトを間接的に知ることが可能である. この種のアプローチの最大の難関は  $^{15}\text{N}$  ラベル tRNA の調製であるが, 核酸関連化合物は容易に要求性変異株を誘導できる場合が多く, 実験費用も比較的安く抑えることが可能である.

RNA フラグメントの場合には, むしろ位置特異的に  $^{15}\text{N}$  ラベルしたオリゴマーを化学合成したほうがはるかに有利であろう. このような応用としては, 自己相補的なテトラマー,  $\text{G}^*\text{-G-C-U}_P$  ( $\text{G}^*$ :  $^{15}\text{N}$ -グアノシン) を合成し, その  $^1\text{H}$ -NMR から “G·U wobble 対” の  $\text{G}_1\text{H}$  イミノプロトンを帰属した例がある<sup>(22)</sup>. このようなアプローチは, 特定位置のみを選択的にラベルできるというメリットがあり, 生合成的ラベル手法とは別の有力な手

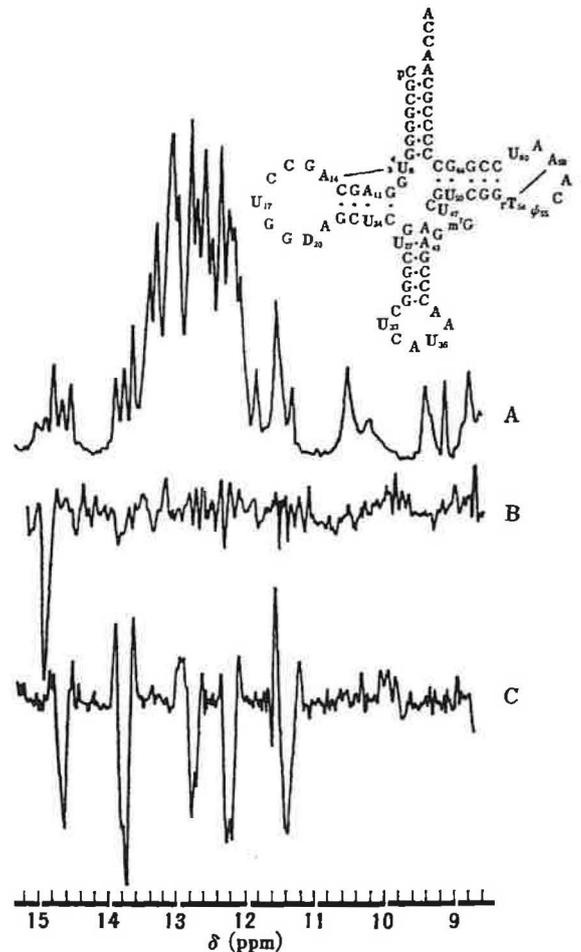


図 9  $[\text{N}_3\text{-}^{15}\text{N}]$ -ウリジンを生合成的にとり込ませた  $\text{tRNA}_{\text{P}}^{\text{Met}}$  (*E. coli*) の 360 MHz  $^1\text{H}$ -NMR スペクトル (軽水中) (Poulter, 西村ら, 1983)<sup>(21)</sup> (A) 普通の条件で測定したスペクトル, 30°C, (B) 177.8 ppm の  $^{15}\text{N}$  核を照射した差  $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$  スペクトル (下向きのシグナルは  $\text{S}^4\text{U}$  に由来), (C) 159.0 ppm の  $^{15}\text{N}$  核を照射した差  $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$  スペクトル (シグナルは低磁場側より, U 24, T 54, U 27, U 50,  $\psi$  55 に帰属された).

法となろう. 合成のしやすさもあり, DNA オリゴマーのシグナルの帰属にも採来は有効に用いられることが期待される.

核酸の構造化学への同位体ラベル法の応用は,  $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$  スピン結合の帰属への利用以外にも数多くの試みがある. シグナルの帰属という観点からは,  $^{15}\text{N}$  と直接に結合する  $^{13}\text{C}$  シグナルの特定も有用な場合がある. リボース環炭素  $^{13}\text{C}$  シグナルの中で塩基窒素 ( $^{15}\text{N}$ ) とのスピン結合を生じるのは  $\text{C}_1'$  のみであることを利用して, 5'-ヌクレオチドのウラニルイオン錯体の  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$ -NMR の帰属が確定したのはその一例である<sup>(23)</sup>. 重水素置換によるプリン塩基の  $\text{C}_8\text{H}$  シグナルの帰属は, 古くから知られた手法であるが, 最近はこの手法は tRNA

のようなポリヌクレオチドにも有効に用いられている。化学的交換を用いずに、生合成的に重水素化した前駆体を組み込めば、 $C_9H$  以外のプロトンの帰属にも応用ができる。

$^{13}C$ -,  $^{15}N$ -NMR の直接的観測も多くの興味を持たれており、横山による詳しい総説が良い参考となる<sup>(24)</sup>。ここでは一例だけ、筆者らの最近行なった研究を紹介する。リボヌクレアーゼ  $T_1$  (RNase $T_1$ ) はグアニル酸残基に特異的なエンドヌクレアーゼであり、その作用機作の構造化学的研究が盛んに行なわれている。特に興味を持たれている点の一つに、阻害剤 3'-GMP の核酸部分と RNase $T_1$  との相互作用があり、これらの研究を通じて、なぜリボヌクレアーゼが塩基特異性を持ちうるかの理解が得られるものと期待される。このような目的のためには、直接の相互作用部位である窒素の情報に注目すべきであり、その点  $^{15}N$ -NMR は最も直接的である。実際に、グアニン塩基の窒素をすべて 95%  $^{15}N$  ラベルした 3'-GMP を用いることにより、比較的短時間で十分な感度でスペクトルが測定できた例がある。この際、RNase  $T_1$  との共存下で  $^{15}N$ -スペクトルの変化が見られたが、従来からの論争点の一つである  $N_7$  のプロトン化の可能性は明確に否定することができた<sup>(25)</sup>。

\*

以上述べたように、NMR における同位体ラベル法はまさに NMR 法の中心的解析手法としての地位を確立しているとみるべきであろう。それゆえ、“同位体ラベル法についての良い解説”がありうるとするならば、それは結局“生体系 NMR の良い解説”となるであろう。本小文はとうていこの責に耐えるものではないが、限られたトピックスについてのみ紹介した本稿は、最近の筆者の小文と併せ読まれると内容としては補完されると思う<sup>(1)</sup>。

#### 文 献

- 1) “NMR-総説と実験ガイド [I], [II]”, 宮澤辰雄, 荒田洋治編, 南江堂 (1983).
- 2) “NMR の生体高分子への応用”, 和田昭允編, 共立出版, 1973.
- 3) O. Jardetzky & G. C. K. Roberts: “NMR in Molecular Biology”, Academic Press, New York, 1981.
- 4) K. Wüthrich (荒田・甲斐荘訳): “生体物質の NMR——ペプチド・タンパク質を中心に”, 東京化学同人, 1979.
- 5) J. L. Markley, I. Putter & O. Jardetzky: *Science*, 161,

1249 (1968).

- 6) H. L. Crespi, J. R. Norris & J. J. Katz: *Nature New Biol.*, 233, 178 (1972).
- 7) J. Feeney, G. C. K. Roberts, B. Birdsall, D. V. Griffiths, R. W. King, P. Sxudder & A. S. V. Burgen: *Proc. R. Soc. London, Ser. B*, 196, 267 (1977).
- 8) K. Akasaka, H. Hatano, T. Tsuji & M. Kainosho: *Biochim. Biophys. Acta*, 704, 503 (1982).
- 9) A. Brown-Mason, C. M. Dobson & R. C. Woodworth: *J. Biol. Chem.*, 256, 1506 (1981).
- 10) D. T. Browne, E. M. Earl & J. D. Otvos: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 72, 398 (1976).
- 11) D. T. Browne, G. L. Kenyon, E. L. Packer, H. Sternlicht & D. M. Wilson: *J. Am. Chem. Soc.*, 95, 1316 (1973).
- 12) R. E. London, C. T. Gregg & N. A. Matwiyoff: *Science*, 18, 266 (1975).
- 13) W. W. Bachovchin & J. D. Roberts: *J. Am. Chem. Soc.*, 100, 8041 (1978).
- 14) C.-H. Niu, S. Matsuura, H. Shindo & J. Cohen: *J. Biol. Chem.*, 254, 3788 (1979).
- 15) 中沢 隆: 学位論文, 大阪大学蛋白質研究所 (1982).
- 16) W. C. Jones, Jr., T. M. Rothgeb & F. R. N. Gurd: *J. Biol. Chem.*, 251, 7452 (1976).
- 17) J. J. Villafranca, S. G. Rhee & P. B. Chock: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 75, 1255 (1978).
- 18) 甲斐荘正恒, 辻 尚志, 赤川治郎, 三井幸雄: 蛋白質核酸酵素, 27, 1556 (1982).
- 19) M. Kainosho & T. Tsuji: *Biochemistry*, 21, 6273 (1982).
- 20) 甲斐荘正恒, 長尾洋昌, 今村有紀子, 辻 尚志: 第 34 回タンパク質構造討論会要旨, 49, 熊本 (1983).
- 21) R. R. Griffey, C. D. Poulter, Z. Yamaizumi, S. Nishimura & B. L. Hawkins: *J. Am. Chem. Soc.*, 105, 143 (1983).
- 22) S. Uesugi, E. Nakagawa, E. Ohtsuka, M. Ikehara, M. Watanabe, Y. Kobayashi, Y. Kyogoku & M. Kainosho: *J. Am. Chem. Soc.*, 104, 7340 (1982).
- 23) M. Kainosho & M. Takahashi: *Nucleic Acids Research Symp. Ser.*, 12, 181 (1983).
- 24) 横山茂行: “核酸の構造と NMR”, 文献 1), p. 73.
- 25) Y. Kyogoku: *Appl. Spectrosc. Rev.*, 17, 279 (1981).

## 化学情報へのアクセス

——いかに活用するか

R. E. Maizell 著/飯塚健・山崎飛訳 A 5 判/270頁/3000円  
膨大な情報の中から、いかにして目的とする情報を入手し効率よく活用するか。的確な現状把握、研究開発のアイデア函養、また新たな市場開発の“成功”のための指針となる書。

〈主要目次〉 基本的な考え方/情報の流れと伝達のパターン/探索の方策/現状把握プログラム/文書情報の上手な入手法/ *Chemical Abstracts Service/CA* 以外の抄録、索引サービス/オンライン、オフライン情報検索/総説類/大辞典・ハンドブック/特許情報/安全・防災に関する情報/物理的データなどのデータ所在探索/化学の市場およびビジネス情報/プロセス情報。

学会出版センター

air for 30 min at 450°C and (ii) refluxing in 4 M HCl at 120°C for 24 hours.

11. H. E. Romero, G. U. Sumanasekera, G. D. Mahan, P. C. Eklund, *Phys. Rev. B* **65**, 205410 (2002).
12. P. G. Collins, K. Bradley, M. Ishigami, A. Zettl, *Science* **287**, 1801 (2000).
13. G. U. Sumanasekera *et al.*, *Phys. Rev. B* **65**, 035408 (2001).
14. We have observed a sample-dependent difference in  $S_0$  that depends on the nature and quality of the purification process. The value depends, for example, on whether  $\text{HNO}_3$  or HCl is used to remove residual catalyst from the material. Care must be taken to degas the purified material at  $\sim 200^\circ\text{C}$  in a high vacuum (i.e., better than  $\sim 10^{-6}$  torr) for 10 to 24 hours and to directly observe the asymptotic approach of  $S$  to  $S_0$ . In our measurements on about 100 samples mostly derived from electric ARC-produced material, we find that samples with the lowest amorphous carbon content and residual metal catalyst show the smallest, negative  $S_0$  value (i.e.,  $S_0 \sim -3$  to  $-8$  V/K). The "best" samples had D-band Raman scattering intensity  $\sim 1/20$  (or less) than that of the T-band scattering, and had measured metal content of  $\sim 0.1$  to  $\sim 0.5$  weight % (wt %). Some samples exhibited  $S_0$  as large as  $-50$  V/K. Despite this variation in  $S_0$ , all samples that reached an asymptotic negative TEP value to  $S_0$  in the range from  $-3$  to  $-50$  V/K showed essentially the same characteristic response of the transport parameters ( $R$ ,  $S$ ) to a specific gas.
15. R. D. Barnard, *Thermoelectricity in Metals and Alloys* (Taylor and Francis, London, 1972).
16. Recently, a broad peak in  $S(T)$ , observed below 100 K and superimposed on a linear  $T$  background, has been attributed to an additional contribution from phonon drag (11, 17). Because our measurements in this study were made at 500 K, we ignore a phonon drag contribution that is a low-temperature effect.
17. J. Vavro *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* **90**, 065503 (2003).
18. This assumption is an application of Matthiessen's rule (15).
19. H. E. Romero, P. C. Eklund, unpublished data.
20. P. B. Allen, in *Superconductivity in D- and F-Band Metals*, H. Suhl, M. B. Maple, Eds. (Academic Press, New York, 1980).
21. P. L. Rossiter, *The Electrical Resistivity of Metals and Alloys* (Cambridge Univ. Press, Cambridge, 1987).
22. K. Bolton, A. Rosen, *Phys. Chem. Chem. Phys.* **4**, 4481 (2002).
23. The (10,0) tube is semiconducting and has a diameter of 7.83 Å. It is sufficiently small to facilitate the simulation of a large number of scattering events required for statistical analysis.
24. This was done by scaling the velocity of the carbon atoms at the tube ends to zero at each trajectory

time step. In this way, energy in the axial direction was adsorbed, but not in the tube radial or circumferential directions.

25. Saito *et al.* (2) reported on the strong diameter dependence of the squash mode. By using their calculated squash-mode frequency for a (10,10) tube, we estimate that the squash-mode frequency for a (10,0) tube is  $29\text{ cm}^{-1}$ . In our molecular simulations we observe  $43\text{ cm}^{-1}$ . The short length of the nanotube which is clamped at the ends may upshift the squash-mode frequency relative to that obtained for an infinite tube.
26. We also found that the slopes of theoretical lines of the average tube energy and the maximum radial displacement as a function of the colliding mass decrease with time.
27. J.-Q. Lu *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* **90**, 156601/1 (2003).
28. C.-J. Park, Y.-H. Kim, K. J. Chang, *Phys. Rev. B* **60**, 10656 (1999).
29. The authors gratefully acknowledge many helpful discussions with G. D. Mahan. This work was supported by NSF (P.C.E.), Pennsylvania State University (P.C.E. and H.R.), and the Swedish Foundation for Strategic Research (A.R. and K.B.).

25 June 2004; accepted 1 December 2004  
10.1126/science.1102004

## Observation of Large Water-Cluster Anions with Surface-Bound Excess Electrons

J. R. R. Verlet,<sup>1</sup> A. E. Bragg,<sup>1</sup> A. Kammrath,<sup>1</sup>  
O. Cheshnovsky,<sup>2</sup> D. M. Neumark<sup>1,3\*</sup>

Anionic water clusters have long been studied to infer properties of the bulk hydrated electron. We used photoelectron imaging to characterize a class of  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  and  $(\text{D}_2\text{O})_n^-$  cluster anions ( $n \leq 200$  molecules) with vertical binding energies that are significantly lower than those previously recorded. The data are consistent with a structure in which the excess electron is bound to the surface of the cluster. This result implies that the excess electron in previously observed water-cluster anions, with higher vertical binding energies, was internally solvated. Thus, the properties of those clusters could be extrapolated to those of the bulk hydrated electron.

The hydrated electron (1), which is localized and supported within a cavity formed by surrounding water molecules, plays a prominent role in many areas of condensed-phase science such as radiation physics, biological activity, electron transfer, and charge-induced reactivity. Gas-phase clusters of solvent molecules have also been observed to carry an extra charge (2), and they represent microscopic analogs to their bulk counterparts, assuming that sufficient solvent molecules are present. For water clusters, however, the critical size beyond which the cluster anion resembles the bulk hydrated electron has remained a contro-

versial issue. Specifically, there are believed to be two localization modes for an excess electron in a water cluster: an internally solvated electron, akin to the bulk; and an electron localized on the surface of the cluster (3).

Significant theoretical effort has been devoted to understanding the nature of the excess electron in water clusters,  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$ . Path-integral molecular dynamics simulations found that surface states are more stable at sizes up to  $n = 32$  molecules, whereas the internal electron is more stable for  $n \geq 64$  (3). Electron vertical binding energies (VBEs), which correspond to the minimum amount of energy required to remove the electron from the cluster anion with no molecular rearrangement, were predicted to be considerably lower for the surface states than for the internal states. Thus, photoelectron (PE) spectroscopy of  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  clusters should yield the size at which the surface-to-internal structural transformation occurs.

However, PE spectra measured by Coe *et al.* (4) showed no evidence for a surface-to-internal transition in the predicted size range. Instead, the measured VBEs from  $(\text{H}_2\text{O})_{11}^-$  up to  $(\text{H}_2\text{O})_{69}^-$  scaled linearly with the inverse of the cluster radius or, equivalently, as  $n^{-1/3}$ . Such a correlation is expected for an internally solvated electron within a simple dielectric model (5), which recovers the observed gradient using the known dielectric constants of bulk water (4, 6). Furthermore, extrapolation of the VBE to infinite size (the bulk) yielded a value of 3.3 eV, which is close to the photoelectric threshold of water, 3.2 eV, estimated by Coe *et al.* (4). This result supports the idea that there is an internally solvated electron in these clusters. However, the measured VBEs are in good agreement with VBEs calculated for surface states (3), providing the alternative interpretation that surface states were observed in the experiments. There is a similar inconsistency in the electronic absorption spectra of  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  ( $15 \leq n \leq 50$ ) (7), in which the maxima also scale linearly with  $n^{-1/3}$  and extrapolate to the observable bulk value (1). But, those spectra were also found to be in agreement with the calculated values for surface rather than internal states (8). Finally, even though PE spectra of  $\Gamma(\text{H}_2\text{O})_n^-$  clusters showed a VBE-versus- $n^{-1/3}$  correlation with the same gradient as  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  clusters (9), there is consensus that the iodide resides on the surface of small- to medium-sized clusters (10, 11).

The issue of internal versus surface structures has reemerged in the context of two recent time-resolved PE spectroscopy studies focusing on the dynamics of  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  clusters after electronic excitation (12, 13). Measurement of the internal conversion lifetime of  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  as a function of size ( $n = 25$  to 50) extrapolated to a bulk value of 50 fs, supporting a nonadiabatic

<sup>1</sup>Department of Chemistry, University of California, Berkeley, CA 94720, USA. <sup>2</sup>School of Chemistry, The Sackler Faculty of Exact Sciences, Tel-Aviv University, 69978, Israel. <sup>3</sup>Chemical Science Division, Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, CA 94720, USA.

\*To whom correspondence should be addressed. E-mail: dneumark@berkeley.edu

## REPORTS

relaxation model for the bulk hydrated electron (14). However, extrapolations to the bulk assume that cluster anions are akin to the hydrated electron. Without direct evidence, the question of electron localization in  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  clusters has remained open.

The nature of electron binding in water-cluster anions can be clarified by locating  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  isomers with either higher or lower VBEs in the size range studied by Coe *et al.* (4). Here, we report observation of a class of water-cluster anions with significantly lower VBEs than those previously reported and assign them to clusters with surface-bound electrons. These clusters were generated by means of a new pulsed valve (15) capable of producing very cold molecular beam conditions, and the clusters were characterized using one-photon and time-resolved PE imaging.

Our PE imaging apparatus has been described in detail elsewhere (16). Clusters were generated by passing Ar-carrier gas over water ( $\text{H}_2\text{O}$  or  $\text{D}_2\text{O}$ ) at 20°C and were injected into the vacuum chamber by means of an Even-Lavie pulsed valve, operated at 100 Hz (15). The gas mixture was crossed by high-energy electrons (~500 eV), generating anions through secondary-electron attachment near the throat of the expansion. Anion clusters were then extracted and mass-selected by their time of flight before the laser interaction. Electrons were detached from the cluster by a ~100-fs laser pulse centered at a wavelength of 398 nm ( $h\nu = 3.11$  eV, where  $h$  is Planck's constant and  $\nu$  is the frequency of the laser pulse). The ejected PEs were analyzed by velocity-map imaging (17), in which an electrostatic lens projected the three-dimensional (3D) PE velocity distribution onto a focal plane. On this focal plane, a 70-mm multichannel-plate detector coupled to a phosphor screen provided a visual display of the emitted electron cloud, and we captured these images on a charge-coupled device (CCD) camera. PE spectra were then reconstructed from the 2D images using standard methods (18).

The one-photon experiments revealed the existence of water-cluster anion isomers with low VBEs. The dynamics of these isomers were characterized by pump-probe experiments, in which an initial pulse of ~100 fs duration and centered at a wavelength of 1650 nm (0.75 eV) pumped the population into an excited state, which was then probed with a delayed probe pulse at a wavelength of 790 nm and of similar time duration.

We acquired PE spectra of a number of  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  and  $(\text{D}_2\text{O})_n^-$  clusters, where  $n = 11$  to 200. The effect of varying source backing pressure is shown for  $(\text{D}_2\text{O})_{50}^-$  in Fig. 1. The black line shows a typical PE spectrum with VBE = 1.78 eV, in agreement with the results of Coe *et al.* (4). By gradually increasing the source backing pressure, which generally correlates to cooling of the cluster ensemble, we observed a new feature at lower VBE. At

a backing pressure of 70 pounds per square inch (psi), this feature dominates the PE spectrum, and it has a maximum at VBE = 0.97 eV. This observed transition confirms the presence of two distinct species in the molecular beam, labeled as isomers I and II.

A series of PE spectra for  $(\text{D}_2\text{O})_n^-$  with  $n = 11$  to 150 was collected both at low (30 psi) and high (70 psi) backing pressures (Fig. 2). For clusters with  $n > 50$ , the PE spectra taken at higher pressure have a single broad asymmetric feature, attributed solely to isomer II. For  $n < 50$ , isomer I cannot be completely removed in the pressure range studied (30 to 70 psi), and its PE signature increases relative to isomer II as the size is decreased. For these smaller clusters, an additional feature was observed at very small VBE indicated by asterisks in Fig. 2 (isomer III). PE spectra for  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  are similar to those of  $(\text{D}_2\text{O})_n^-$  for sizes  $n > 50$ . Smaller clusters of  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  do not appear to form isomer II and III as readily, and neither isomer was observed below  $n = 27$ .

In Fig. 3, we compare the VBEs of these differing isomers with previously reported VBEs and their  $n^{-1/3}$  dependence (4, 19). Our measurements for isomer I are in agreement with those obtained by Coe *et al.* (4). Isomer II clusters show consistently smaller VBEs than isomer I clusters, and they scale linearly with  $n^{-1/3}$  for  $11 \leq n \leq 20$  and for  $n > 50$ , with a steeper slope for the set of larger clusters. The VBEs for both isomers II and III appear to connect smoothly, toward smaller sizes, with those previously reported by Kim *et al.* (19), who observed two isomers for several  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  clusters with  $n \leq 11$ . Figure 3 also includes results from molecular dynamics simulations (3), illustrating the apparent agreement of the calculated surface VBEs with isomer I.

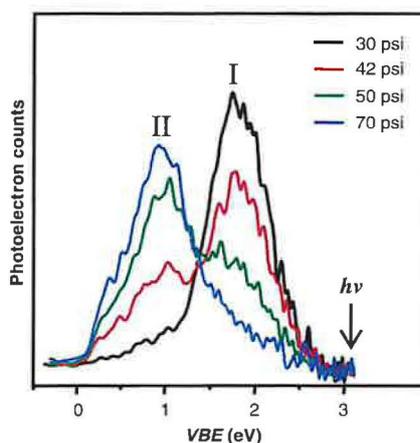


Fig. 1. PE spectra of  $(\text{D}_2\text{O})_{50}^-$  under varying cluster source conditions. The peaks assigned to internally solvated and surface-localized electron isomers are labeled as I and II, respectively. Different line colors represent PE spectra taken at various backing pressures.

The observation of different isomers over a large range of cluster sizes suggests differing modes of electron localization. Theoretical studies find that the isomer with a lower VBE has its electron localized near the surface of the cluster (3), which leads us to assign isomer II to surface states; isomer I is assigned to clusters with internalized electrons. Scaling the VBEs that were calculated from molecular dynamics simulations by 60% for both surface and internal states yielded good agreement with the experimental VBEs for isomers II and I, respectively (Fig. 3). This result implies too strong an electron-water interaction in the model potential used to calculate the VBEs (20). The assignment of isomer I to clusters with an internally localized electron agrees with the original assignment by Coe *et al.* (4) and validates our extrapolation of the excited-state dynamics in  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  clusters to those of the bulk hydrated electron (12).

Time-resolved pump-probe experiments provided further characterization of isomer II.

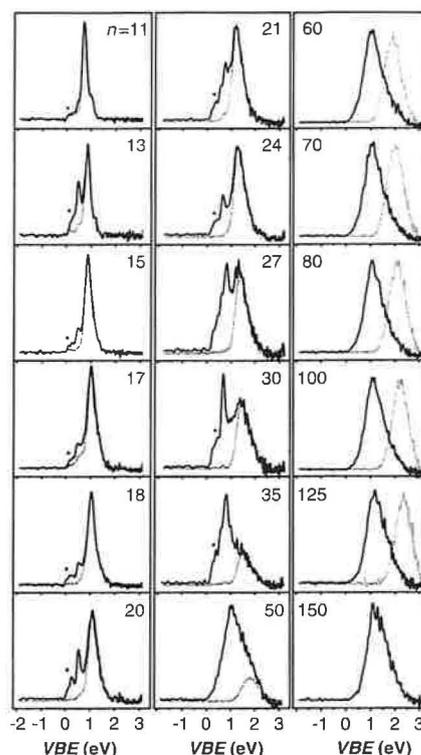


Fig. 2. PE spectra of  $(\text{D}_2\text{O})_n^-$  with  $11 \leq n \leq 150$  at 30 psi (gray) and 70 psi (black). The peaks marked with asterisks show the presence of a second surface state, isomer III. For  $n = 11$  to 50, the PE feature caused by the internally solvated isomer (gray) is scaled to highlight its contribution to the total PE spectra collected at 70 psi. For  $n = 60$  to 125, there is virtually no contribution from the internally solvated isomer, and the PE spectra for these are scaled to the intensity of the PE spectra from the surface-bound isomer.

In particular, clusters with surface-bound electrons were predicted to support excited states (8), and their relaxation rates may thus be quantified by measuring the PE signal at highest electron kinetic energy, corresponding to the time-dependent pump-probe signal (21). We measured excited-state lifetimes for  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  and  $(\text{D}_2\text{O})_n^-$  clusters with  $60 \leq n \leq 100$  under conditions where only isomer II was present, and compared them to those previously obtained for isomer I (Fig. 4) (12). The lifetimes for isomer II were longer and were nearly size-independent. This size invariance suggests a significantly weaker coupling of the electron to the solvent network, compared to the  $1/n$  dependence observed for isomer I clusters (12). The results in Fig. 4 reinforce our assignments of isomers I and II, because a surface-bound excess electron is expected to be less strongly coupled to the solvent network than an internally localized electron.

The VBEs measured for isomer II of  $(\text{D}_2\text{O})_n^-$  with  $11 \leq n \leq 20$  merge with those measured by Coe *et al.* (4) and Kim *et al.* (19) for  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  with  $n \leq 11$ . This suggests a common structural motif in the two size ranges. Recent theoretical and experimental work (22–24) indicates that for clusters with  $n \leq 7$ , the lowest energy anion structure is one where a double hydrogen-bond-accepting

(AA) water molecule acts as the binding site for the excess electron. The electron is bound by a combination of high dipole moment of the overall solvent network and, more locally, by the two dangling H atoms from the AA water. Our results support a similar electron-binding scheme for isomer II with  $11 \leq n \leq 20$ . The evolution of isomer II VBEs for larger cluster sizes, however, suggests a transitional region for  $20 < n < 50$ , as a new electron-binding motif is established for  $n > 50$ , characterized by stronger binding and a more pronounced dependence on cluster radius. Only at these large cluster sizes does the surface-bound motif for  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  clusters become prominent at colder conditions, providing further evidence for a qualitative change in the electron binding once this size is reached. The nature of electron binding to clusters with  $n > 50$  is likely to be similar to those observed in simulations (3). A local environment involving single acceptor H atoms from a small number of solvent molecules binds the electron on the cluster surface. The electron is further stabilized by the long-range polarization energy induced in the solvent network. The latter effect is demonstrated by the larger gradient in the VBE versus  $n^{-1/3}$  plot.

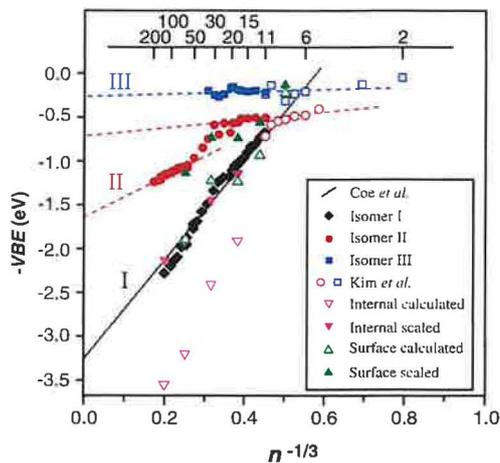
Analogous arguments suggest that isomer III, seen for  $(\text{D}_2\text{O})_n^-$  with  $11 \leq n \leq 35$ , may

have similar electron-binding motifs to the lower-VBE isomers observed by Kim *et al.* for  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  with  $n \leq 11$  (19). By measuring photodetachment cross-sections of the two isomers of  $(\text{H}_2\text{O})_6^-$ , Bailey and Johnson concluded that the electron distribution for the lower-VBE isomer is significantly more diffuse (25). This conclusion is supported by ab initio calculations (23), predicting a book-like solvent structure for the lower VBE isomer for which the dipole moment of 5.5 D is about half that of the  $(\text{H}_2\text{O})_6$  structure with the AA water molecule. The evolution of the isomer III VBEs thus suggests a more diffuse surface-electron bound by a number of dangling H atoms. The very weak size dependence of this isomer also suggests that the collective network provides little stabilization because the electron is delocalized over much of the surface.

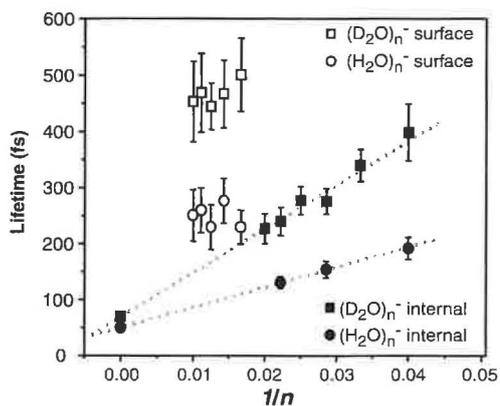
Regarding the mechanism by which the differing isomers are formed, the considerably higher VBEs for isomer I indicate that it is the more stable anion for  $n > 11$ . However, isomers II and III are favored by higher source backing pressure, which is generally associated with forming colder and more stable clusters. It appears that isomers II and III are metastable species whose formation is enhanced under colder expansion conditions. These results can be rationalized, given that water-cluster anions are most likely formed in the pulsed jet by the attachment of relatively low-energy electrons to neutral clusters, which then continue to grow as the expansion progresses. As the backing pressure increases, the neutral clusters should be larger and colder in the region of expansion where electron attachment occurs. Hence, under normal conditions similar to those used by Coe *et al.* (4) (30 psi in our experiment), we propose that the electrons are attaching to relatively warm, liquid-like clusters, and further solvent molecules may condense onto the cluster after attachment. Furthermore, solvent rearrangement to form the lowest energy anion configuration occurs readily because of the high internal energy available in the solvent network. On the other hand, formation of large anions with surface-localized electrons occurs under much colder conditions, where a small local reorganization can bind the electron on the surface, but the overall low internal energy inhibits the large solvent reorganization necessary to form the internally solvated electron. In that sense, the binding process of the large clusters ( $n > 50$ ) may be viewed as electron attachment to an ice nanocrystal.

For smaller clusters, where  $11 \leq n \leq 20$ , the situation is less clear. No neutral  $(\text{H}_2\text{O})_n$  clusters with AA water molecules have been observed experimentally (26). Assuming that the isomer II cluster anions involve an electron binding to an AA water molecule, it appears that these species cannot be formed by simply adding an electron to a neutral cluster; a substantial amount of solvent rearrangement is

**Fig. 3.** Plots of VBEs for water-cluster anions versus  $n^{-1/3}$ . VBEs for isomer I were obtained under conditions similar to those used in previous studies. VBEs for isomers II and III of  $(\text{D}_2\text{O})_n^-$  were extracted from Fig. 2. Isomer II data also include VBEs obtained for  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  with  $60 \leq n \leq 200$ . The linear fit to data from Coe *et al.* is taken from (6). Data from Kim *et al.* (19) for clusters with  $n \leq 11$  are also shown. Data labeled "internal calculated" and "surface calculated" are from molecular dynamics (MD) simulations (3); also shown are MD binding energies scaled by 60%.



**Fig. 4.** Pump-probe results for surface and internal states. Relaxation time scales are given after electronic excitation of the surface isomers at 0.75 eV (open symbols) and internal isomers at 1.0 eV (solid symbols) of  $(\text{H}_2\text{O})_n^-$  (circles) and  $(\text{D}_2\text{O})_n^-$  (squares). Relaxation dynamics of the internal states follow a  $1/n$  size dependence (12), whereas dynamics of the surface states are slower and show no size dependence.



## REPORTS

required even for a surface state. The observation of isomer II clusters in this size range only for  $(D_2O)_n^-$  attests to the fragility of these isomers. They are most likely associated with shallow local minima on the overall potential energy landscape and exist only because of the lower zero-point energies and tunneling rates associated with  $D_2O$  as compared to  $H_2O$  (27). These considerations may explain why, even for larger clusters where we see isomers I and II for both isotopomers, it is easier to make the surface-bound isomer II for  $(D_2O)_n^-$  clusters. The preference for isomer I in  $(H_2O)_n^-$  clusters could also be a manifestation of the greater stability of the hydrated electron in liquid  $H_2O$  than in  $D_2O$  (28).

### References and Notes

- E. J. Hart, J. W. Boag, *J. Am. Chem. Soc.* **84**, 4090 (1962).
- H. Haberland, C. Ludewig, H. G. Schindler, D. R. Worsnop, *J. Chem. Phys.* **81**, 3742 (1984).
- R. N. Barnett, U. Landman, C. L. Cleveland, J. Jortner, *J. Chem. Phys.* **88**, 4429 (1988).
- J. V. Coe et al., *J. Chem. Phys.* **92**, 3980 (1990).
- R. N. Barnett, U. Landman, C. L. Cleveland, J. Jortner, *Chem. Phys. Lett.* **145**, 382 (1988).
- J. V. Coe, *Int. Rev. Phys. Chem.* **20**, 33 (2001).
- P. Ayotte, M. A. Johnson, *J. Chem. Phys.* **106**, 811 (1997).
- R. N. Barnett, U. Landman, G. Makov, A. Nitzan, *J. Chem. Phys.* **93**, 6226 (1990).
- G. Markovich, S. Pollack, R. Giniger, O. Cheshnovsky, *J. Chem. Phys.* **101**, 9344 (1994).
- W. H. Robertson, M. A. Johnson, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **54**, 173 (2003).
- P. Jungwirth, D. J. Tobias, *J. Phys. Chem. B* **106**, 6361 (2002).
- A. E. Bragg, J. R. R. Verlet, A. Kamrath, O. Cheshnovsky, D. M. Neumark, *Science* **306**, 669 (2004).
- D. H. Paik, I.-R. Lee, D. S. Yang, J. S. Baskin, A. H. Zewail, *Science* **306**, 672 (2004).
- M. S. Pshenichnikov, A. Baltuska, D. A. Wiersma, *Chem. Phys. Lett.* **389**, 171 (2004).
- U. Even, J. Jortner, D. Noy, N. Lavie, C. Cossart-Magos, *J. Chem. Phys.* **112**, 8068 (2000).
- A. E. Bragg, J. R. R. Verlet, A. Kamrath, D. M. Neumark, *J. Chem. Phys.* **121**, 3515 (2004).
- A. T. J. B. Eppink, D. H. Parker, *Rev. Sci. Instrum.* **68**, 3477 (1997).
- V. Dribinski, A. Ossadtchi, V. A. Mandelstam, H. Reisler, *Rev. Sci. Instrum.* **73**, 2634 (2002).
- J. Kim, I. Becker, O. Cheshnovsky, M. A. Johnson, *Chem. Phys. Lett.* **297**, 90 (1998).
- D. M. Bartels, *J. Chem. Phys.* **115**, 4404 (2001).
- A. E. Bragg, J. R. R. Verlet, A. Kamrath, O. Cheshnovsky, D. M. Neumark, unpublished data.
- H. M. Lee, S. B. Suh, K. S. Kim, *J. Chem. Phys.* **118**, 9981 (2003).
- H. M. Lee, S. Lee, K. S. Kim, *J. Chem. Phys.* **119**, 187 (2003).
- N. I. Hammer et al., *Science* **306**, 675 (2004).
- C. G. Bailey, M. A. Johnson, *Chem. Phys. Lett.* **265**, 185 (1997).
- U. Buck, F. Huisken, *Chem. Rev.* **101**, 205 (2001).
- F. N. Keutsch, R. J. Saykally, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **98**, 10533 (2001).
- P. Han, D. M. Bartels, *J. Phys. Chem.* **95**, 5367 (1991).
- This research is supported by NSF grant no. CHE-0350585. Additional support from the United States-Israel Binational Science Foundation is gratefully acknowledged.

25 October 2004; accepted 22 November 2004  
Published online 16 December 2004;  
10.1126/science.1106719  
Include this information when citing this paper.

# Liquid Crystalline Networks Composed of Pentagonal, Square, and Triangular Cylinders

Bin Chen,<sup>1</sup> Xiangbing Zeng,<sup>3</sup> Ute Baumeister,<sup>2</sup>  
Goran Ungar,<sup>3</sup> Carsten Tschierske<sup>1\*</sup>

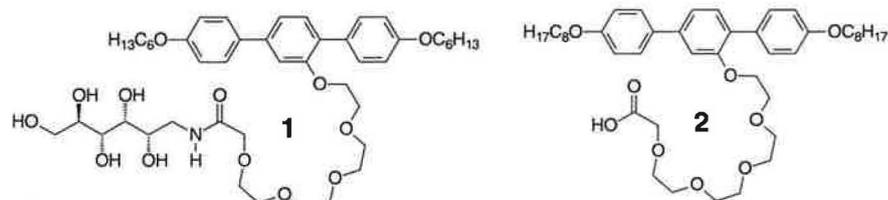
T-shaped molecules are designed in such a way that they self-organize into nanoscale liquid crystalline honeycombs based on polygons with any chosen number of sides. One of the phases reported here is a periodic organization of identical pentagonal cylinders; the other one is a structure composed of square-shaped and triangular cylinders in the ratio 2:1. These two different packing motifs represent duals of the same topological class. The generalization of the concept applied here allows the prediction of a whole range of unusual complex liquid crystalline phases.

One of the fascinating aspects of beehive honeycombs is their nearly perfect hexagonal structure. Although it is intuitively "obvious" that this is the way to pack cylinders with the minimum wall area, the mathematical proof came only recently (1). Whether we look at living tissue or the organization of nanoparticles, molecules, or atoms, one can find numerous examples of hexagonal patterns. The situation is different for pentagons. In contrast to hexagons, regular pentagons, whose edge lengths and angles are all equal, fail to tile the plane, a fact that has intrigued humans since ancient times (2, 3). However, snugly fitting pentagons can tile the sphere, either by themselves

(pentagonal dodecahedron) or in combination with hexagons [e.g., fullerenes (4) or supermolecules like polyoxometallates (5)]. In contrast,

tiling of a flat plane by identical pentagons can be achieved only if regular pentagons are mixed with other polygons in a nonperiodic arrangement [Penrose tilings (6, 7)] or if they contain at least two different angles and side lengths (8, 9). The latter is difficult to realize on a molecular scale with the rather strongly fixed angles and distances dictated by covalent bonding and coordination of standard chemical building blocks. Hence, only a nonplanar two-dimensional (2D) net of pentagons has been realized with a coordination polymer (10). We show that the liquid crystalline state (11), which combines order and mobility, provides the necessary degree of flexibility for the realization of pentagonal honeycombs.

Liquid crystals (LCs) are known as materials for flat, low power-consuming displays in computing and telecommunication devices. The self-organization within the liquid crystalline phases is driven by the molecular shape, leading to long-range orientational order, and by



Scheme 1.

**Table 1.** Phase transition temperatures ( $T$ ) of compounds 1 and 2 (18) and the volume fractions of polar side chains ( $f_p$ ) and nonpolar end chains ( $f_r$ ). Abbreviations: Cr, crystalline solid state; Col<sub>sq</sub>/p4gm, square columnar phase of the plane group p4gm; Col<sub>sq</sub>/p4mm, square columnar phase of the plane group p4mm; Col<sub>hex</sub>/p6mm, hexagonal columnar phase of the plane group p6mm; Iso, isotropic liquid state.

Compound	$T$ (°C)	$f_r$	$f_p$
1	Cr 50 Col <sub>sq</sub> /p4gm 105 Col <sub>hex</sub> /p6mm 118 Iso	0.29	0.44
2	Cr 21 Col <sub>sq</sub> /p4gm 30 Col <sub>sq</sub> /p4mm 31 Iso	0.41	0.30

<sup>1</sup>Institute of Organic Chemistry, <sup>2</sup>Institute of Physical Chemistry, Martin-Luther-University Halle-Wittenberg, Kurt-Mothes-Strasse 2, D-06120 Halle, Germany. <sup>3</sup>Department of Engineering Materials and Centre for Molecular Materials, University of Sheffield, Sheffield S1 3JD, UK.

\*To whom correspondence should be addressed. E-mail: carsten.tschierske@chemie.uni-halle.de



## Observation of Large Water-Cluster Anions with Surface-Bound Excess Electrons

J. R. R. Verlet *et al.*  
*Science* **307**, 93 (2005);  
DOI: 10.1126/science.1106719

---

*This copy is for your personal, non-commercial use only.*

---

If you wish to distribute this article to others, you can order high-quality copies for your colleagues, clients, or customers by [clicking here](#).

Permission to republish or repurpose articles or portions of articles can be obtained by following the guidelines [here](#).

**The following resources related to this article are available online at [www.sciencemag.org](http://www.sciencemag.org) (this information is current as of January 26, 2015):**

**Updated information and services**, including high-resolution figures, can be found in the online version of this article at:  
<http://www.sciencemag.org/content/307/5706/93.full.html>

This article **cites 27 articles**, 4 of which can be accessed free:  
<http://www.sciencemag.org/content/307/5706/93.full.html#ref-list-1>

This article has been **cited by** 152 article(s) on the ISI Web of Science

This article has been **cited by** 8 articles hosted by HighWire Press; see:  
<http://www.sciencemag.org/content/307/5706/93.full.html#related-urls>

This article appears in the following **subject collections**:  
Chemistry  
<http://www.sciencemag.org/cgi/collection/chemistry>

## 資料4 部分訳

## 1 ページ abstract

陰イオン水クラスターは、バルクでの水和電子の特性を推測するために長い間研究されてきた。我々は、光電子イメージング方を用いて、これまでに記録されたものよりも大幅に低い垂直結合エネルギーを持つ $(\text{H}_2\text{O})_n$ および $(\text{D}_2\text{O})_n$ -クラスターアニオン ( $n = 200$  分子) 類について性質を調べた。得られたデータは、過剰電子がクラスター表面に結合しているという構造と一致した。この結果は、これまでに観測された、より高い垂直結合エネルギーを持つ水クラスターアニオンの過剰電子が内部溶解和されていることを示唆している。ゆえに、これらのクラスターの性質はバルクでの水和電子の特性に外挿することができる。

## 2 ページ 水クラスターと水和電子の作り方

クラスターは、 $20^\circ\text{C}$ の水( $\text{H}_2\text{O}$  または  $\text{D}_2\text{O}$ )上に、アルゴンキャリアガスを通させることで生成され、 $100\text{Hz}$  (15) で動作する Even-Lavie パルスバルブを用いて真空チャンバー内に注入された。この混合ガスに高エネルギー電子 ( $\sim 500\text{ eV}$ )を照射し、膨張部スロート付近で二次電子付着により陰イオンを生成した。次に、陰イオンクラスターは抽出され、レーザーと相互作用させる前に飛行時間法によって質量で選んだ。電子は、クラスターから、波長  $398\text{nm}$  ( $h\nu = 0.311\text{ eV}$ ,  $h$  はプランク定数、 $n$  はレーザーパルスの周波数) を中心とする $\sim 100\text{ fs}$  のレーザーパルスによって分離された。