

計量化学が拓く新しい界面の光計測

長谷川 健

計量化学（ケモメトリックス）りという、吸収スペクトルやクロマトグラムなどの多変量データを使って、多成分濃度検量や物質分類をする分野、というイメージが強い。計量化学の多くが線形モデルの多変量解析を基礎にしているため²⁾、どうしても濃度検量などの限定されたイメージから抜け出せないことが多いのは事実である。しかし、このままでは実用的ではあっても、学問としての魅力に輝きが足りない。

多変量解析が計測分析や物理の分野から必ずしも顧みられないのは、線形モデルの式自体に物理的視点が不足していることが一因である。こうした問題を克服する目的で、線形モデル式で構築可能な物理計測系を考え、また線形モデルならではの特殊な機能にも着目した新しい界面計測の手段を構築した。

現実にはない‘仮想光’による薄膜計測概念考え、それを実現させるためのアイデアとして、多変量回帰式を用いた物理の記述を初めて活用した。仮想光（縦波光）計測を実測で成功させた初めての方法である。

薄膜の生物学

生物学の要素技術のひとつとして、薄膜の構造解析があげられる。生命現象は溶液中での化学反応や輸送も重要だが、界面での分子認識や物質輸送が鍵を握ることが多い。生命体で界面といえば、細胞やオルガネラの外壁を構成する薄膜が重要で、多くの場合脂質二重層膜を基本とした非共有結合性分子集合系である。

この分子集合系という概念は特に重要である。生体薄膜の流動モザイクモデルは、非共有結合性の分子集合系として実現できている。時間平均的に流動を無視して見たとき、重要なのは分子が一定の配向を示すことである。すなわち、分子はランダムに並んでいるのではなく、ある程度の規則性を持って並んでいる。結晶ほど整然とはしていないが、水素結合や疎水性相互作用などの分子間力によって、分子配向が引き起こされ、薄膜の機能発現に直結している。つまり、薄膜の分子配向を正確にとらえることは、生物学の重要な一歩といえる。

赤外分光法による薄膜構造解析

分子配向を解析するのに、赤外分光法は強力な道具で

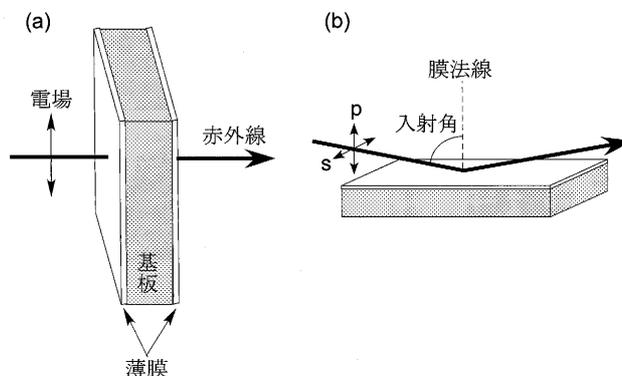


図1. 赤外透過およびRAスペクトル測定概念図

ある。赤外スペクトルには、官能基単位でグループ振動が現れ、これは振動の方向（振動遷移モーメント）が赤外線の電場振動の方向と一致したときに最大の吸収となって現れ、互いに直交するときはスペクトルに現れない。

この性質を使うと、赤外透明基板に載せた薄膜に赤外線を垂直に入射させたとき（図1a）、赤外線がもつ電場振動は光の進行方向に常に垂直（つまり膜面に平行）なので、膜中のグループ振動のうち、膜面に平行なものだけがスペクトルに現れることがわかる。この性質を、透過分光法の表面選択律²⁾という。

一方、薄膜を金属面上に作製し、大きな入射角（膜法線方向から測る）で赤外線を入射し、反射スペクトルを測定する方法を、反射吸収（RA）法^{3,4)}という（図1b）。RA法では、反射面に垂直な電場が面近傍に特異的に発生するため、膜中のグループ振動のうち、膜面に垂直なものばかりがスペクトルに現れる。これを赤外RA法の表面選択律という。

このように、透過法とRA法の表面選択律が互いに相補的であることから、二つのスペクトルを得られれば、官能基単位で分子の配向をとらえることができるようになる。例としてステアリン酸カドミウム塩単分子膜を9層積んだ膜 Langmuir-Blodgett (LB) 膜^{2,3)}を、実際に赤外透過およびRA法で測定した結果⁵⁾を図2に示す。

これは、基板に対してほぼ垂直に立って配向しているステアリン酸金属塩分子を想定すると理解しやすい。この場合、メチレン基（CH₂）の対称伸縮振動や逆対称伸

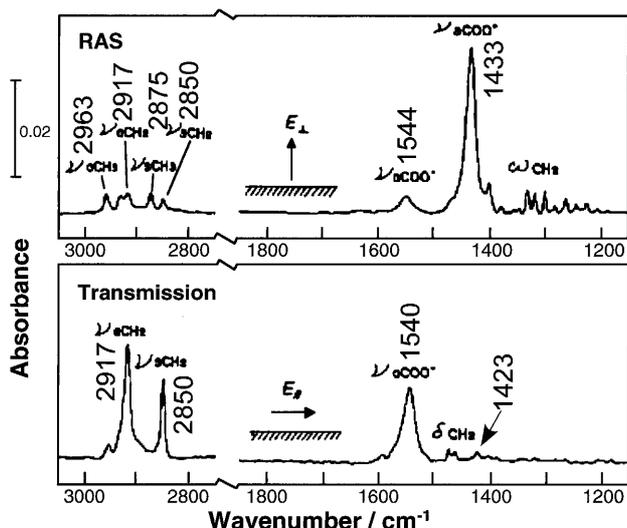


図2. ステアリン酸カドミウム塩9層LB膜の赤外透過(下)およびRA(上)スペクトル. 基板は各々CaF₂および銀蒸着ガラス基板.

縮振動バンド (2850および2917 cm⁻¹) は、いずれも膜面にほぼ平行なグループ振動となる。このため、これらのバンドは、透過スペクトルに非常に強く現れている一方で、RAスペクトルには非常に弱く現れている。

逆に、COO⁻対称伸縮振動 (ca. 1430 cm⁻¹) はRAスペクトルに非常に強く現れ、透過スペクトルではほとんど見えない。これは、この官能基のグループ振動が膜面に垂直配向していることを示し、実際の分子モデルともよく合う。

このように、透過・RA法の組み合わせ測定は分子配向を如実に反映した結果を与えるため大変便利だが、異なる二種類の基板 (透明基板および金属基板) の上に '同一の' 薄膜を作製しなくてはならない点が問題である。基板の表面エネルギーは誘電体と金属とは大きく異なるため、単分子膜が基板の違いに大きな影響を受け、同一の薄膜を比較していることにはならない場合がままあるからである。

仮想光計測

RA スペクトルの表面選択律は、薄膜支持基板が金属であることが重要な物理的背景である。これは、界面に垂直な方向を向いた電場を作り出すために必要だからである。しかし、これがゆえに透過法とは異なる基板を用意しなくてはならず、薄膜解析に大きな限界を与える。このジレンマを克服するには、既存の考え方では限界がある。

そこで、次のような仮想光計測を考えることにする。ここで言う仮想光とは、図3に示すように常光と比較するとわかりやすい。

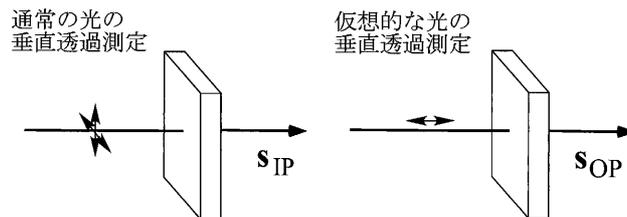


図3. 常光および仮想光の垂直透過測定概念

左の図は、常光による垂直透過のイメージである。光の電場ベクトルは進行方向に常に垂直であるイメージを、二つの矢印で示している。一方、右の図は光の進行方向に平行な電場振動を持つ仮想的な光を描いてある。実際にはない光だが、透過光学系で考えたとき、電場が膜面に垂直な方向を向くことがわかるであろう。仮想光が実験で使えない以上、直接測定は不可能だが、仮に測定できたとしたら、どのような計測理論ができるだろうか。

そこで、この常光および仮想光による垂直透過光強度を、それぞれ S_{IP} および S_{OP} と書くことにして、理論化したい。

計量化学の出番

さて、ここでいよいよ計量化学の出番である。

仮想光による計測理論とはいえ、実際に測定するためには、実測できる実験と結び付けられるような理論が必要である。そこでまず、実測の系として図4のような光学系を考える。

薄膜に入射した非偏光は、基板や薄膜内部で多重反射を繰り返した後、一部が検出器に届く。このときの光の強度を S_{obs} と書くことにする。つまり、 S_{obs} を S_{IP} および S_{OP} と理論的に関連付けることが必要である。

これを厳密な従来式の光学理論にのっとって記述するのは非常に難しい。仮想光に関する反射・透過理論がないことも一因だが、それ以前に、薄膜や基板の光学定数を波長ごとに把握しなければ、厳密な記述はできないからである。つまり、既存の理論的考察では早くも限界が

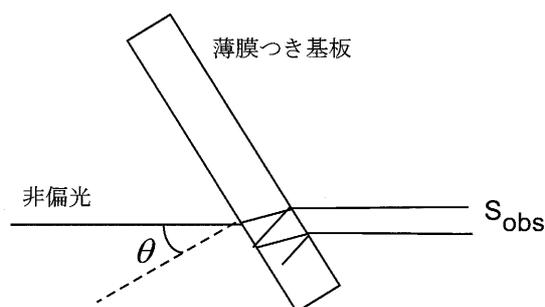


図4. 斜め入射測定と透過光強度の概念図

特 集

見えてしまうことになる。

この状況を一気に打開するのが計量化学の分野でもっとも基本的な次の式²⁾である。

$$A = CK + U_d \quad (1)$$

Aは測定したスペクトルを束ねた行列、Cは濃度混合比を全サンプルについて記述した行列、Kは純成分スペクトルをまとめた行列、 U_d はCで説明できなかったAの残差をまとめたものである。この式は、Lambert-Beer則を、行列を使って多成分・多波長系に拡張したものと理解することのできるもので、Aには通常、複数の吸光度スペクトルが入る。ひとつの吸光度スペクトルaは、試料とバックグラウンドのシングルビームスペクトル(s_s および s_b) から次式に従って変換して得られる。

$$a = -\log_{10}(s_s/s_b) \quad (2)$$

ただし、ベクトル s_s と s_b の割り算は、ベクトルの各成分どうしの(各波長での)割り算という意味である。これを複数のサンプルについてまとめたものがAである。

この式は、classical least squares (CLS) 回帰式と呼ばれ、純成分スペクトルKが濃度Cを重みとして線形結合され、吸光度スペクトルAをモデル化している点に特徴がある。すなわち、吸光度が濃度に比例するという線形性と、吸光度スペクトルの加算性の両方を示す重要な基礎式である。

測定したスペクトルには、ノイズなどの雑多な情報も混ざっているが、これらは試料濃度Cとは無関係な量なので、線形結合では説明できない量であるといえる。このため、これらを非線形的な量ということもある。この非線形的な量は、通常 U_d 項に捨ててしまう。

CLS回帰式の大きなメリットは、非線形的な量がAに含まれていても、 U_d 項に捨ててしまうため、Cに線形的に応答する情報Kだけを相手にすることができる、という点である。これは実際には(3)式のような計算を行うことで、Aから線形成分を「引き抜く」という概念で実現する。

$$K = (C^T C)^{-1} C^T A \quad (3)$$

ここで、肩つきのTや-1は、それぞれ転置行列および逆行列を表す。(3)式を計算することで、AからCに線形に応答する成分だけを、Kとして引き抜ける非常に便利な式である。

仮想光計測の理論化

CLS回帰法の持つ、こうした性質は、次のように読み

替えることができる。すなわち“Aに含まれる情報の一部だけでも線形結合で説明できる場合は、それを定式化できる”。言い換えると、Aのすべてを理論的に定式化できない場合でも、理論が構築できるのである。これを使うと、図4の s_{obs} の一部は s_{IP} および s_{OP} で表現できる⁶⁾。

$$S = R \begin{pmatrix} s_{IP} \\ s_{OP} \end{pmatrix} + U_d \quad (4)$$

$$R = \left(\frac{4}{\pi}\right)^2 \begin{pmatrix} 1 + \cos^2\theta_j + \sin^2\theta_j \tan^2\theta_j & \tan^2\theta_j \\ \vdots & \vdots \end{pmatrix} \quad (5)$$

ここで、Sは入射角を変えて測定した複数のシングルビームスペクトルの束を表し、Rは入射角ごとに s_{IP} および s_{OP} の混合比率を決める行列である。このR行列の導出は、光子が界面を横切る際の電場の分配をもとに考えたものだが、委細は文献⁶⁾に譲る。注意すべき点は、吸光度スペクトルを測るのではなく、シングルビームスペクトルを測らねばならないという点である。

実測で得られるS行列と理論的にわかっているR行列により、(3)式を使えば s_{IP} および s_{OP} が同時に求まる。S行列の一部しかR行列で説明できていなくても、対応する s_{IP} および s_{OP} が決められるところが、回帰式を使うメリットである。

この測定を、バックグラウンドと試料の両方について行い、二組の s_{IP} および s_{OP} が得られれば、そこから(2)式に従って二つの吸光度スペクトルに変換できる。この方法を、多角入射分解分光法(multiple-angle incidence resolution spectrometry; MAIRS)⁷⁾という。ステアリン酸カドミウム5層LB膜をゲルマニウム基板(赤外に透明な材料)に累積し、赤外MAIRS法で測定した結果を次に示す。IPおよびOPは面内および面外方向の振動スペクトルであることを示し、従来法の透過およびRA法と対

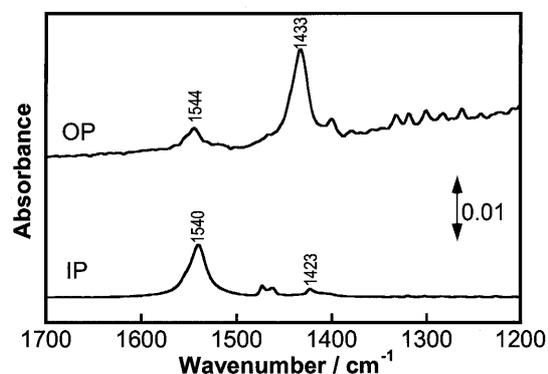


図5. Ge基板上に作製したステアリン酸カドミウム5層LB膜の赤外MAIRSスペクトル

応することを意味する。実際、図2の低波数領域と比較すると、よく似た結果が得られていることがわかるが、図5のOPスペクトルは非金属のGe基板上での結果で、図2のRAスペクトルが金属基板上でしか得られないことと決定的に異なる。

この方法は、仮想光を仮定した計測法であるため、特殊な成果が得られるが、代表的な特徴をまとめると次のようになる。

1. 非金属基板上で純面外スペクトルが測定可能
2. 面内・面外スペクトルが同一の試料で同時に測定可能
3. 偏光子を使わずに偏光スペクトルが得られる
4. 分子配向が光学定数を使わずに求められる

最後の分子配向解析についてだけ、少し触れておこう。

MAIRS法の原理的特長として、面内・面外スペクトルのいずれの測定も、常光・仮想光による垂直透過測定を基礎としている(図3)。このため、得られる二つのスペクトルは、縦軸のスケールが共通している。つまり、IPとOPスペクトルのバンド強度を直接比較して分子配向 ϕ を求められるのである。具体的には、次式を用いる⁸⁾。

$$\phi = \tan^{-1} \sqrt{2I_{IP}/I_{OP}} \quad (6)^*$$

I_{IP} および I_{OP} は、それぞれIPおよびOPスペクトル中に現れるバンド強度(吸光度)である。このように、非常に簡単な計算で、たちどころに分子配向を明らかにできる。

生体関連薄膜の解析

生体関連物質を扱った、赤外MAIRS法による解析例をひとつだけ紹介する⁸⁾。図6のようなロイシン基を4つ含む両親媒性化合物(Leu4)を単分子膜化すると、分子間でアミド基による水素結合と、ロイシン残基(Y字型部位)によるロイシンファスナーが形成されると言われてきたが⁹⁾、ロイシンファスナーの形成を証明する実験事実がなかった。

そこで、この単分子膜を赤外分光法で測定した。従来の透過・RA法の組み合わせを試みたところ、RA法用の金属基板に膜を転写すると、膜の平行 β -シート構造が壊

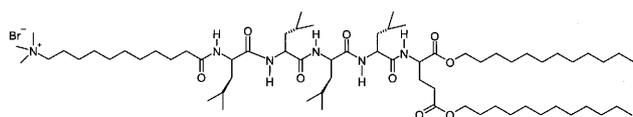


図6. Leu4の構造式

*文献6)の式(5)は誤植。本稿の式(6)が正しい。

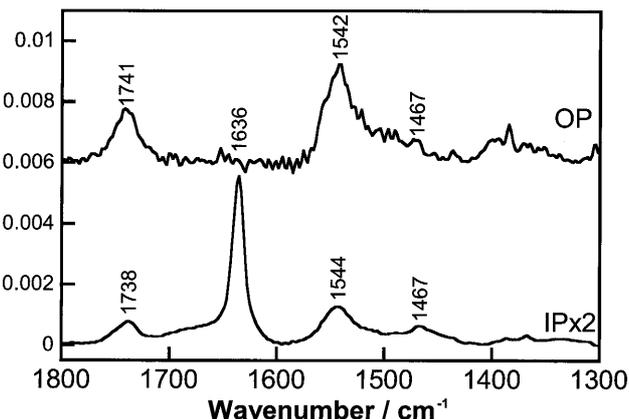


図7. Leu4単分子膜の赤外MAIRSスペクトルの低波数領域(ロイシンファスナー形成前)

れることがわかり、解析できなかった。そこで、赤外MAIRS法で解析を行った。

図7に示すMAIRSスペクトルには、単分子膜のIPおよびOPスペクトルが両方示してある。平行 β -シート構造を示す 1636 cm^{-1} のバンド(C=O伸縮振動に対応)はIPスペクトルに非常に強く現れ、OPにはまったく出ていない。このことから、アミド基による水素結合は、膜面に平行に配向していることがわかる。

また、分子中の二つのエステル性C=O基が、配向の違いを反映してIPとOPスペクトルにそれぞれ 1738 、 1741 cm^{-1} という異なる位置に出ている。これらはMAIRS法で初めて明らかになった。

また図には示していないが、ロイシンファスナーが噛み合った後は、 2985 cm^{-1} に分子が噛み合ったことを示すバンドがOPスペクトルのみに現れた。

このように、計量化学は新しい計測手法を生み出す力を持つことがわかる。また、最初の成果であるMAIRS法は、生体関連薄膜試料の解析に、強力な測定手段となることが示された。

文 献

- 1) 宮下芳勝ら：ケモメトリックス—化学パターン認識と多変量解析，共立出版(1995)。
- 2) 長谷川健：スペクトル定量分析，講談社(2005)。
- 3) Greenler, R. G.: *J. Chem. Phys.*, **44**, 310 (1966)。
- 4) Umemura, J.: *Handbook of Vibrational Spectroscopy* (Chalmers, J. M. and Griffiths, P. R.), Vol. 2, p. 982, Wiley-Interscience, New York (2002)。
- 5) Umemura, J. et al.: *J. Phys. Chem.*, **94**, 62 (1990)。
- 6) Hasegawa, T.: *J. Phys. Chem. B*, **106**, 4112 (2002)。
- 7) 長谷川健：オレオサイエンス，**3**, 241 (2003)。
- 8) Hasegawa, T. et al.: *J. Phys. Chem. B*, **109**, 4783 (2005)。
- 9) Yamada, N. et al.: *Angew. Chem. Int. Ed.*, **42**, 5496 (2003)。