顕微ラマン分光法による無機・有機複合材料の新規分析方法

福田和繁・大谷若菜・松本恵理子・川島徳道・高田朋典

桐蔭横浜大学医用工学部, 225-8502 横浜市青葉区鉄町 1614

Novel Analysis of Inorganic-Organic Composites using Raman Microscopy

Kazushige FUKUDA, Wakana OHOTANI, Eriko MATHUMOTO,
Norimichi KAWASHIMA and Tomonori TAKATA

Faculty of Biomedical Engineering, Toin University of Yokohama, 1614, Kurogane-cho, Aoba-ku, Yokohama-shi 225-8502

Recently inorganic/organic composites, such as calcium carbonate and water-soluble organic polymer with fine and complex structures have been actively advancing. Therefore, it is necessary to develop a novel analytical method for these materials. In order to solve the problem, a comprehensive non-destructive methodology for the simultaneous quantitative analysis of the calcium carbonate crystal phases in their binary mixtures and organic polymers was developed, based on the use of a Raman microscope. In this method, relative error of aragonite was on a level of X-ray diffraction, while that of organic polymers was 30%.

[Received March 16, 2006; Accepted July 20, 2006]

Key-words : Raman microscope, Calcium carbonate, Polymorphism, Quantitative analysis, Composite material, Aragonite, Calcite, X-ray diffraction

1. 緒 言

近年, 新規無機・有機複合材料の分野において, バイオミネラルリゼーション (生体鉱物化) が注目されている¹⁾. 例えば, アワビの貝殻はバイオミネラルリゼーションにより生成したバイオミネラルであるが, 炭酸カルシウム (主成分: アラゴナイト型) と生体高分子 (タンパク質と多糖類) がナノスケールの規則性で積層化した構造を有している. このような構造の貝殻は, 一般的な合成方法でつくられた炭酸カルシウム結晶の約3000倍の強度を有することが知られている. そこで, バイオミネラルリゼーションを模倣した新規無機・有機複合材料の研究が精力的に進められている. その結果, バイオミネラルリゼーションを模倣したアラゴナイト型炭酸カルシウム (以下アラゴナイト) の合成では, 各原料成分の濃度, 温度, pH などのほかに, 水溶性有機高分子の存在, 更には, 結晶が析出あるいは成長するための足場となるマトリックスの存在が重要であることが報告されている^{2)~8)}.

生成した炭酸カルシウム結晶の微小領域内 (μm オーダー) における多形とその結晶上に存在する有機高分子を定量的に知ることが反応機構を解明するうえで重要である. しかし, 従来, 結晶上の有機成分を多形と同時に分析することは困難であった.

このため, 反応液中の水溶性高分子の経時的濃度変化を分析するか, 合成した複合材料から水溶性高分子を溶解させ定量分析するなどの手法で水溶性高分子成分の多形への影響を推定するか, あるいは赤外分光法で水溶性有機高分子と炭酸カルシウムの相互作用を定性的に解析している⁴⁾.

また, 炭酸カルシウム結晶の多形に関して, Kontoyannis らは, 顕微ラマン分光法が微小領域 (空間分解能約 $1\mu\text{m}$) 内の多形を検出することが可能であることに注目し, 炭酸カルシウムの多形の定量分析法を報告している⁹⁾. 更に, Agarwal らは水溶性有機高分子共存下で結晶化された炭酸カルシウムの多形を In-Situ 観察し, ラマン分光法がバイオミネラルリゼーションを模倣した新規炭酸カルシウム系複合材料の研究においても有

用な分析法であることを示している¹⁰⁾. また, 赤外分光法による炭酸カルシウムの多形の定量分析^{11), 12)}も提案されているが, これらの方法は古くから使用されている X 線回折と比較して際立った有効性がないため, バイオミネラルリゼーションを模倣した炭酸カルシウムの合成研究のための分析法として使用された例は少ない.

以上のように, バイオミネラルリゼーションを模倣した新規炭酸カルシウム系無機・有機複合材料を創製する研究と比較して, 得られた複合材料の分析方法の研究はかなり遅れている.

このような状況下, 従来, 顕微ラマン分光法は, 単に炭酸カルシウム系無機・有機複合材料の多形の定性分析あるいは定量分析のみに使用されているにすぎなかった. そこで, 本研究では, 顕微ラマン分光法を用いて, 炭酸カルシウム系無機・有機複合材料中の炭酸カルシウムの多形 (カルサイト及びアラゴナイトの2成分) と水溶性有機高分子の3成分を同時に, かつ簡単に定量分析に応用する方法について検討した.

なお, 炭酸カルシウム系無機・有機複合材料のモデル無機成分にはカルサイト型炭酸カルシウム (以下カルサイト) 及びアラゴナイトを用いた. また, 水溶性有機高分子成分には, バイオミネラルリゼーションで使われた実績があるポリアクリル酸と構造が酷似し, かつ炭酸カルシウムのスラリーに分散剤として工業的にも広く使用されており, 炭酸カルシウムの粒子表面に均一に吸着されると考えられるポリアクリル酸ナトリウム (NaPA) 及び水溶性高分子であるが NaPA と構造が大きく異なるポリビニルピロリドン (PVP) を用いて検討した.

2. 実 験

2.1 試薬及び試料の調製

カルサイト (軽質炭酸カルシウム: カルサイト100%, 粒子径: 長径 $1.5\mu\text{m}$, 短径 $0.4\mu\text{m}$) 及びアラゴナイト (アラゴナイト80%, カルサイト20%, 粒子径: 長径 $1\mu\text{m}$, 短径 $0.4\mu\text{m}$) は丸尾カルシウム製をそのまま使用した. なおカルサイト及びアラゴナイトは水酸化カルシウムスラリーに炭酸ガスを通気す

ることにより製造されたものである。また、NaPAは東亜合成製（アロン T-40：重量度600）を、PVPは和光純薬製（重合度500）を使用した。検量線のカルサイト-アラゴナイト系混合試料は、計算量のカルサイト及びアラゴナイトにメタノールを加え、よく混合してペースト状とし、ガラス板上に塗布し室温で一晩放置し半乾燥状態とした後130°Cで15 min 乾燥した後、乳鉢で粉碎することにより調製した。同様の操作によりカルサイト-NaPA系混合試料及びカルサイト-PVP系混合試料も調整した。ただし、これらの試料の場合は、分散媒に蒸留水を使用した。

2.2 顕微ラマン分光スペクトルの測定条件

励起光源として532 nmのYAGレーザ、分光器として1800 gr/mmのグレーティングを、検出器としてCCDを搭載した共焦点顕微ラマン分光装置（NRS-3200型レーザラマン分光光度計、日本分光製）を使用した。

検量線の作成において、測定スポット内で標準試料の各成分の混合比が、標準試料の調整時の配合比であり、しかも、炭酸カルシウムの各結晶、粒子表面に吸着された水溶性有機高分子の方位が十分にランダムである必要がある。この点を考慮して測定スポットサイズは20 μm $\times$ 20 μm とした。また、1ポイント当たりの露光時間は30 s、積算回数2回でおこなった。なお、深さ方向の分解能は30~40 μm と推定される。

2.3 定量分析に使用するピークの決定及び検量線の作成

検量線作成に使用するピークを決定するために、カルサイト、アラゴナイト、NaPA及びPVPの単独のスペクトルを測定した。検量線に使用するピークは相互に重ならないものの中から決定した。

アラゴナイトの検量線用標準試料は2.1節で述べた方法でカルサイトを基準物質として、濃度を変えて数点作成した。また、同様にNaPAあるいはPVPの検量線用標準試料を作成した。

検量線はカルサイトの質量に対するアラゴナイトの質量比とカルサイトの特性ピークのピーク面積に対するアラゴナイトの特性ピークのピーク面積比との関係で作成した。また、同様の手法でNaPA及びPVPの検量線も作成した。

2.4 検量線からの組成算出方法

検量線から組成を算出する方法についてカルサイト-アラゴナイト-NaPA系を例に説明する。

2.3節で作成した検量線を用いて、カルサイトの質量に対する各成分の質量比を求め、(1)式~(3)式で各成分の含有率[mass%]を算出した。

$$\text{アラゴナイト} [\%] = \frac{W_1}{(W_1 + W_2 + 1)} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{NaPA} [\%] = \frac{W_2}{(W_1 + W_2 + 1)} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{カルサイト} [\%] = \frac{1}{(W_1 + W_2 + 1)} \times 100 \quad (3)$$

W_1 ：検量線から求めたカルサイトの質量に対するアラゴナイトの質量比

W_2 ：検量線から求めたカルサイトの質量に対するNaPAの質量比

なお、(2)式の W_2 を検量線から求めたカルサイトの質量に対するPVPの質量比を使用することにより、カルサイト-アラゴナイト-PVP系の組成分析を算出することができる。

2.5 他の分析方法との比較

顕微ラマン分光法による炭酸カルシウムの多形の分析結果を従来の多形の一般的な分析法であるX線回折法で分析した結果と比較した。

Fig. 1. Raman spectra of (a) calcite, (b) aragonite (c) NaPA and (d) PVP.

3. 結果及び考察

3.1 カルサイト、アラゴナイト、NaPA及びPVPのラマンスペクトルと特性ピーク

カルサイト、アラゴナイト、NaPA及びPVPのそれぞれのラマンスペクトルを図1(a)~(d)に示した。

図1(a)はカルサイトのスペクトルであり、強度が強い順に1085, 279, 155及び716 cm^{-1} 付近に特性ピークが確認された。図1(b)はアラゴナイトのスペクトルであり、同様に1085, 151, 205及び704 cm^{-1} 付近に特性ピークが確認された。また、ここで使用したアラゴナイトにはカルサイトが20%含まれているため、279 cm^{-1} にカルサイト由来のピークが認められた。図1(c)はNaPAのスペクトルであり、2924, 1416, 1465及び905 cm^{-1} に特性ピークが確認された。更に、図1(d)はPVPのスペクトルであり、2931, 1452, 753及び938 cm^{-1} 付近に特性ピークが確認された。

なお、NaPA及びPVPは水溶液の状態で測定しているため、図1(c)及び(d)には3000~3700及び160 cm^{-1} 付近に水に由来するブロードで高強度のピークが存在することが確認された。

図1(a)~(d)の結果から、ピーク強度が強いこと、他の成分のピークと重ならないこと等を考慮して検量線に使用するピークは279 cm^{-1} (カルサイト)、205 cm^{-1} (アラゴナイト)、2924 cm^{-1} (NaPA: CH_2) 及び2931 cm^{-1} (PVP: CH_2) とした。

3.2 各成分を混合したときのラマンスペクトル

次に、各成分の特性ピークを利用して、それぞれの混合物についてスペクトルを検討した。炭酸カルシウム多形の分析とし

Fig. 2. Raman spectra of (a) calcite, (b) 9% aragonite-91% calcite, (c) 18% aragonite-82% calcite, (d) 70% aragonite-30% calcite and (e) 80% aragonite-20% calcite.

てカルサイトとアラゴナイトの混合物のスペクトルを図2に示した。図2(a)は、カルサイト100%のときのスペクトルである。(b)~(e)はアラゴナイトとカルサイトを混合したときのスペクトルであり、(b), (c), (d), (e)はカルサイト中のアラゴナイトのmass%が、それぞれ9, 18, 70, 80% (カルサイトに対するアラゴナイトの質量比は0.10, 0.22, 2.3, 4.0) とアラゴナイトの混合比率を増加させたものである。その結果、(b)から(e)すなわち、アラゴナイトの混合比率が増加するに従って、アラゴナイト由来の 205 cm^{-1} のピーク強度が増加し、カルサイト由来の 279 cm^{-1} のピーク強度が減少していることが確認された。

次にカルサイト中の水溶性有機高分子成分の分析としてカルサイトとNaPAの混合物について検討した。カルサイトとNaPA混合物のスペクトルを図3に示した。図3(a)はカルサイト100%のスペクトルである。(b), (c), (d)はカルサイト中のNaPAのmass%が、それぞれ1, 2, 4% (カルサイトに対するNaPAの質量比は0.010, 0.020, 0.042) としたときのスペクトルである。NaPAの混合比率が増加するに従い、 2924 cm^{-1} のピーク強度が増加していることが確認された。

以上のことから、アラゴナイト/カルサイトの質量比と $205\text{ cm}^{-1}/279\text{ cm}^{-1}$ のピーク強度比を利用して、アラゴナイトの検量線を作成することが可能と考えられる。

また、NaPA/カルサイトの質量比と $2924\text{ cm}^{-1}/279\text{ cm}^{-1}$ のピーク強度比の関係を利用してNaPAの検量線を作成することが可能であると推定される。

更に、同様の方法で有機成分としてPVPを用いた場合について検討した。その結果を図4に示した。図4の(a)はカルサイト100%のスペクトルであり、(b), (c), (d), (e)はカルサイトにPVPをそれぞれ2, 3, 5, 10 mass% (カルサイトに対するPVPに対する質量比0.020, 0.031, 0.053, 0.11) 添加したときのスペクトルである。PVPの混合比率が増加するに従い、 2931 cm^{-1} のピーク強度が増加していることが確認された。このこ

Fig. 3. Raman spectra of (a) calcite, (b) 1% NaP-99% calcite, (c) 2% NaPA-98% calcite and (d) 4% NaPA-96% calcite.

Fig. 4. Raman spectra of (a) calcite, (b) 2% PVP-98% calcite, (c) 3% PVP-97% calcite, (d) 5% PVP-95% calcite and (e) 10% PVP-90% calcite.

とにより、PVP/カルサイトの質量比と $2931\text{ cm}^{-1}/279\text{ cm}^{-1}$ のピーク強度比の関係を利用してPVPの検量線を作成することが可能であると推定される。

3.3 検量線の作成

各混合物のスペクトルの結果から、カルサイト-アラゴナイト混合物中のアラゴナイト、カルサイト-NaPA混合物中のNaPA、カルサイト-PVP混合物中のPVPの検量線について検討した。図5はカルサイト-アラゴナイト混合物中のアラゴナイトの検量線であり、アラゴナイト/カルサイトの質量比と $205\text{ cm}^{-1}/279\text{ cm}^{-1}$ のピーク強度(面積)比との関係をプロットしたものである。本来は二つのピークはピーク分離処理を行うことが望ましいが、今回はそれぞれのピークのベースラインを想定し面積を求めた。また、従来の多形の一般的な分析法であるX線回折法で作成したアラゴナイトの検量線(カルサイトに対

Fig. 5. Raman calibration line for aragonite-calcite mixtures.

Fig. 6. XRD calibration line for aragonite-calcite mixtures.

Fig. 7. Raman calibration line for NaPA-calcite mixtures.

Fig. 8. Raman calibration line for PVP-calcite mixtures.

するアラゴナイトの混合比とカルサイトの $2\theta = 29^\circ$ (ミラー指数104) とアラゴナイト $2\theta = 26^\circ$ (ミラー指数111) の強度比との関係で作成) を図6に示した。この結果、顕微ラマン分光法とX線回折法の検量線の直線性を示す相関係数 r は、それぞれ0.997, 0.995であり、両分析法の検量線の直線性は同等であった。

図7には、顕微ラマン分光法を用いて作成したカルサイト-NaPA混合物中のNaPAの検量線を、図8に顕微ラマン分光法を用いて作成したカルサイト-PVP混合物中のPVPの検量線を示した。なお、貝殻に含まれる有機高分子成分の含有量は、約5%⁷⁾であることから、検量線の範囲は0~5あるいは0~10% (水溶性高分子のカルサイトに対する質量比は0~0.05あるいは0~0.1) とした。図7及び図8の結果からNaPA及びPVPの検量線の相関係数 r は、それぞれ0.999, 0.979と直線性が良好であることが確認された。以上のことから、顕微ラマン分光法を使用することにより、カルサイト-アラゴナイト-NaPA系、カルサイト-アラゴナイト-PVP系の各混合物系において、無機物及び有機物からなる3成分を同時に、しかも、簡便に定量分析可能であることが確認できた。

3.4 分析精度の確認

カルサイト-アラゴナイト混合物 (検量線用試料) 中のアラ

ゴナイトの含有率と顕微ラマン分光法で測定して求めた予測値 (2.3~2.4節で示した方法で求めた含有率) の関係を回帰分析した結果、アラゴナイトの含有率と予測値の回帰直線の傾き a は0.996, 相関係数 r は0.996であった。比較のために、炭酸カルシウムの多形の一般的な分析方法であるX線回折法を用いて測定した場合の回帰直線の傾き a は0.985, 相関係数 r は0.999であった。以上の結果から、顕微ラマン分光法はX線回折の分析精度とほぼ同等であることが確認された。

また、カルサイト-NaPA混合物中のNaPAに関して同様に検討したところ傾き a は0.999, 相関係数 r は0.998, カルサイト-PVP混合物中のPVPに関して a は0.998, 相関係数 r は0.979であった。

今回の検討結果において、水溶性有機高分子であるNaPA及びPVPの含有率と予測値が最も乖離したのは、PVPの含有率2%の試料で、相対誤差は30%であった。

統計的に十分な検討はしていないが、以上の結果から顕微ラマン分光法は微小領域内 (μm オーダー) のアラゴナイトの含有率をX線回折並みの分析精度で分析することが可能であり、しかも、水溶性有機高分子であるNaPA及びPVPも相対誤差が最大30%程度で分析可能と推定されることが確認された。

4. 結 論

バイオミネラリゼーションの手法を模倣した炭酸カルシウム-水溶性有機高分子複合材料の合成で得られた材料の分析として、従来、微小領域内（数 μm オーダー）のカルサイト、アラゴナイト及び水溶性有機高分子の3成分を同時に定量分析することは不可能であった。本研究の結果、炭酸カルシウムの多形の定性分析あるいは定量分析に使用されるにすぎなかった顕微ラマン分光法を利用して、微小領域内におけるアラゴナイト、カルサイト、有機ポリマーの3成分を同時に、しかも簡便に定量分析する手法を確立することができた。

本法を用いたアラゴナイトの分析精度は、粉末X線回折法を用いた分析方法とほぼ同等の値を示した。

また、今回、複合材料のモデル混合物として用いたカルサイト-アラゴナイト-NaPA系及びカルサイト-アラゴナイト-PVP系において、水溶性有機高分子の誤差が最も大きかったのはPVPの含有量が2%の試料で、相対誤差は30%であった。

以上の結果より、顕微ラマン分光法を用いた本分析法はバイオミネラリゼーションの手法を模倣した炭酸カルシウム系複合材料の分析あるいは合成反応を解析する新しい手段としての応用が期待できる。

References

- 1) Masuda, Y. and Koumoto, K., *Chemistry and Education*, Vol. 48, pp. 556-559 (2000) [in Japanese].
- 2) Sugawara, A. and Kato, T., *Chem. Commun.*, pp. 487-488 (2000).
- 3) Hosoda, N., Sugawara, A. and Kato, T., *Macromolecules*, Vol. 36, pp. 6449-6452 (2003).
- 4) Yasue, T., Sato, E., Kojima, Y. and Arai, Y., *J. Soc. Inorg. Mater. Japan (Muki Materialu)*, Vol. 3, pp. 372-379 (1996) [in Japanese].
- 5) Yasue, T., Aigami, H. and Arai, Y., *J. Soc. Inorg. Mater. Japan (Muki Materialu)*, Vol. 5, pp. 486-492 (1998) [in Japanese].
- 6) Ohotani, W., Fukuda, K., Masuyama, M., Tanaka, M., Mathumoto, E. and Takata, T., *Polymer Preprints, Japan*, Vol. 54, No. 2, pp. 4987-4987 (2005) [in Japanese].
- 7) Ohotani, W., Fukuda, K., Masuyama, M., Tanaka, M., Mathumoto, E. and Takata, T., *Proceedings of 14th Polymer Material Forum*, pp. 64-64 (2005) [in Japanese].
- 8) Yasue, T., Kojima, Y. and Arai, Y., *Gypsum & Lime*, No. 247, pp. 471-480 (1993) [in Japanese].
- 9) Kontoyannis, C. G. and Vagenas, N. V., *Analyst*, Vol. 125, pp. 251-255 (2000).
- 10) Agarwal, P. and Berglund, K. A., *Crystal Growth and Design*, Vol. 3, No. 6, pp. 941-946 (2003).
- 11) Xyla, A. G. and Koutsokos, P. G., *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, Vol. 85, pp. 3165-3172 (1989).
- 12) Adler, H. H. and Kerr, P. F., *The American Mineralogist*, Vol. 47, pp. 700-717 (1962).