製紙研究における汎用機器分析 (III)

—赤外およびラマン分光分析—

東京大学農学部 磯 貝 明

General Instrumental Analyses in Pulp and Paper Research (III)

—Infrared and Raman Spectroscopy—

Akira Isogai

Faculty of Agriculture, The University of Tokyo

今回は赤外 (Infrared, IR) 分光分析とくに **FT-IR** (Fourier Transform Infrared Spectroscopy) およびラマン分光分析についての若干の基礎と装置, 測定法, 製紙研究への応用について見てみましょう。IR とラマンは原理を理解する上でいくつかの共通点があるので両方一度に取り上げてみました。

Q: IR とラマン分光の原理を簡単に説明して下さい。

A: 共有結合で結合している原子間の伸縮振動や変角振動のエネルギーレベルは, ちょうど赤外領域の光の波長に対応しています(図1)。この様な伸縮振動や変角振動エネルギーレベルは, 分子中の O-H, C-H, C=O などの化学構造によって異なるため, ある物質に赤外

光を照射すると, その化学構造に対応してある波数 (cm^{-1} , 波長の逆数) の赤外光を, ある量だけ吸収して透過赤外光の光量が部分的に変化した赤外吸収スペクトルが得られます。その物質がない場合 (対照) の透過光量を I_0 , その物質中の例えば C-H に由来する波数領域の透過光量を I とすれば, その物質中の C-H の量は **Lambert-Beer の法則** に従い(1)式で表されます。ここで A は吸光度, T は透過度で, ϵ は C-H のモル吸光係数 ($\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$), c は濃度 (モル/L), l は光路長 (cm) です。

$$\text{吸光度 (A)} = -\ln(I/I_0) = \epsilon cl \quad \cdots(1)$$

$$\text{透過度 (T)} = I/I_0 \quad \cdots(2)$$

この式は紫外線吸収法による定量でよく用いられる式です。いずれにしても, IR では図1に示すように吸収エネルギーを測定することになります。

一方, 上記の振動エネルギーよりも大きなエネルギーの単色光, すなわち赤外光よりも波長の短い可視光の単色光 (波数 ν_0) を照射した場合の散乱光を調べてみると, ほとんどが弾性的なレイリー散乱によって照射した単色光と同じ波数 ν_0 の単色光が散乱します。しかし, その中に僅かな光量ですが, 照射した単色光の波数が $\nu_0 - \nu$ だけ変化した散乱光があります (図1)。これがラマン散乱であり, このシフトした波数 ν に対応するエネルギーは IR と同様, 原子間の伸縮振動や変角振動エネルギーに対応しています。ラマンの散乱強度については単純には示せませんが, 照射光の

図1 赤外吸収, ラマン散乱, レイリー散乱, 蛍光と振動および電子励起エネルギーレベル¹⁾

強度や散乱に起因する化学構造の量に比例します。

このように、IR は吸収スペクトルであり、ラマンは散乱スペクトルという違いがありますが、共に物質中の原子間の振動エネルギーの情報から、その物質の 1 次構造 (化学構造) や 2 次構造 (分子内水素結合など) についての定性、定量的情報が得られます。

図 2 PMMA 含有スチレン-ブタジエンラテックスの IR (A) およびラマン (B) スペクトル

図 2 にはポリメチルメタクリレート (PMMA) を含んだスチレン-ブタジエンラテックスフィルムの IR およびラマンスペクトルを示します。いくつかのバンドにおいて IR 吸収とラマン散乱のピーク位置が一致してはいますが、相対強度が全く異なるバンドや、一方には存在しても一方には全くみられないバンドもあります。一般的に言って IR では O-H, C=O, C-O, C-Cl などの極性基の吸収係数が大きく、一方、ラマンでは C-C, C=C, C≡C などの等極結合基の散乱強度が大きいといった傾向があります。図 2 においても IR スペクトル中には O-H 伸縮振動に対応する $3,400\text{ cm}^{-1}$ 付近の吸収や、C=O 伸縮振動に対応する $1,720\text{ cm}^{-1}$ 付近の吸収が明瞭に現れていますが、ラマンスペクトルにはほとんど現れないか、あるいは相対的に強度の小さいピークとなっています。

Q: IR で得られる基本的な情報は何ですか。

A: IR では波数約 $4,000\sim 400\text{ cm}^{-1}$ の領域の赤外吸収スペクトルから、その物質の化学構造などの情報が得られます。特に C-H, C=C, C≡C, O-H, C-O, C=O, N-H, C-N, C-X (X: ハロゲン) などの存在の有無に関する定性的情報や、例えば同じ C=O でもケトン、エステル、カルボン酸により僅かに吸収ピークを与える波数が異なったり、同じ C=C でも炭素原子の置換基の種類や位置により僅かに吸収ピークを与える波数が異なります。従って、それらの情報から物質の同定が可

図 3 FT-IR の概観と種々の測定法

能です。また2次構造として、水素結合形成やその種類などの定性もできます。通常の赤外吸収スペクトルは前述の透過度 T で表されていますが、これを吸光度に変換することにより、その物質中に含まれている特定の官能基の定量も可能です。更に図3にも示しましたが、偏光処理した赤外光を照射することができるので、繊維やフィルム中の特定の官能基の配向性の評価から、分子の配向性を評価することもできます。

Q: FT-IR の原理について簡単に説明してください。

A: FT-IR は従来の波長分散型の IR と全く異なった原理で IR スペクトルを得る装置です。図3に FT-IR 装置の概観を示しました。原理を簡単に示すと、照射する全波長領域を含む赤外光を一度に干渉計で処理することによって、各波数の赤外光をそれぞれ異なった周期で強弱の振動を有する赤外光に変換します。このようにして得られた各波数成分の波の全合成波をインターフェログラムといいます。インターフェログラムは波数に対応した周期をもつ強弱の波形から成っているので、これをフーリエ変換すれば各波数とその波数の赤外光の強度に分けられます。干渉計中の可動鏡はレーザー光によって制御され、波数分離を正確にコントロールします。

図3の KBr ペレット試料による透過法の場合、試料をセットした場合のインターフェログラムを測定すれば、試料によって透過光強度が変化した波数成分から成るインターフェログラムが得られます。この場合、測定光路中に存在している水蒸気や炭酸ガスによる赤外光の吸収もインターフェログラムに入ってしまうので、試料をセットしていないブランクのインターフェログラムを測定してこれを差し引きます。この差し引いたインターフェログラムをフーリエ変換すると、赤外吸収スペクトルが得られることになります。従来の波長分散型では、スリットによってできるだけ波数の分解能を上げ、高波数側から低波数側に走査していくので1試料の測定に10分以上かかりますが、FT-IR では全波数領域の赤外光を一度に照射でき、かつスリットで光量を絞らなくてすみますから、通常数秒以内で1回分の照射となり、全波数領域の赤外吸収スペクトルを一度に得ることができます。更にフーリエ変換を要しますから、コンピュータが付属してあるため、インターフェログラムを何回も積算することができます、S/N 比が向上します。このようにデータを積算できることは、光量が少なく従来波長分散型では測定できなかった方法、すなわち後述するような ATR 法や顕微 IR 法の応用の範囲を大きく拡大することになりました。

Q: それでは FT-IR により可能になった測定法を教えてください。

A: ATR 法 (減光全反射, Attenuated Total Reflection), 反射および透過型の顕微 IR 法, 拡散反射法 (Diffuse Reflectance), 光音響法 (photo-Acoustic) などは FT-IR により飛躍的に応用の可能性が広がりました。また FT-IR にはコンピュータが付属しており、同時に種々の処理ソフトも付属しています。差スペクトルや面積計算、スペクトルの拡大縮小、透過度と吸光度との変換など様々なデータ処理が容易にできるようになりました。それでは上記の ATR 法と顕微 IR 法について簡単に述べましょう。

ATR 法では図3に示すように、シート状の試料2枚を KRS-5 という褐色のタリウム塩結晶 (有毒) を中にして挟み、赤外光を KRS-5 内に取り込み、試料表面で反射を繰り返して検出器に送ります。反射光を集めてはいますが、ラマンのように散乱光を集光するのではなく、試料表面で吸収されずに反射して集められた赤外光のスペクトルの情報が集められ、結果的に試料表面で吸収された赤外光の情報が集められます。この ATR 法により試料表面から μm オーダーの深さの表面分析が可能になり、しかも ESCA の様に試料を真空にする必要がないという利点により、ATR 法による表面解析は材料分析に幅広く応用されています。特にフィルム状の材料の層構造の分析、フィルム表面からの酸化反応などの解析などに応用されています。ただし、ATR 法ではいくつか注意する点があります。一つは赤外光の染み込み深さは波長に比例するため、低波数側のピーク強度のほうが高波数側のピーク強度よりも大きくなります。この問題は通常 FT-IR のコンピュータに付属してある処理ソフトによって、ある関数に基づいて補正できます。二つめには屈折率の変化によるピークのシフトや強度変化が挙げられます。図4は漂白クラフトパルプの KBr ペレット透過法による IR スペクトルと、同じパルプから調製した手抄きシートの ATR 法による IR スペクトルを示しました。ATR 法で測定したスペクトルは前述の波数補正をしていますが、特に O-H 伸縮振動による $3,400\text{ cm}^{-1}$ 付近の吸収パターンと強度は両測定法間で明瞭に異なっており、そのほかにも何ヶ所か差異が認められます。また表面形状なども重要な因子となります。

顕微 IR 法では図3で示したように、光路を細くすることにより微小領域の IR スペクトルを透過法あるいは反射法により測定します。レンズによる集光は、赤外光がレンズによって吸収を受けるので使用できません。まず光学顕微鏡で照射する領域を設定し、次に

図4 漂白クラフトパルプのKBrペレット透過法(A), および同パルプから調製した手抄きシートのATR法(B)によるIRスペクトル

その位置にカメラの絞りのように光路を狭めて赤外光を照射します。透過法による試料固定においても、試料そのものを固定するか、岩塩板あるいはKBr板で挟んで固定しなければならず、ガラスプレートやカバーガラスなどによる固定は、これらガラス材料が赤外光を吸収するために使用できません。顕微IR法は透明フィルム中の微小な異物の同定などには有効であり多くの報告があります。しかし、不透明な試料についてはスペクトルを得るのに十分な光量を得るのが困難なようです²⁾。

Q: FT-IRの注意点はなんですか。

A: まず、インターフェログラムの歪みを補正する関数(アポダイゼーション関数)の種類によりスペクトルパターンが変化します。試料に適した補正が望まれます。またブランクの取り方により、光路中の水蒸気や炭酸ガスによる吸収をうまく取り除けない場合があります。測定中に試料室の温度が変化することも原因となるでしょう。従って、こまめにブランクのスペクトルを取るか、試料室を窒素で置換してしまうようなアクセサリがあると便利です。干渉計中のビームスプリッターは吸湿性のKBrを含んでいますので常に乾燥には注意が必要です。IRでの定量には十分な注意が必要であり、検量線を作製し誤差の範囲などもチェックしなければなりません。またATR法や顕微IR法、拡散反射法、KBrペレット透過法においても試料調製や測定法に注意すべき点がいくつかありますので専門書を参考にして下さい³⁻⁵⁾。

Q: 製紙研究への応用例としてはどんなものがありますか。

A: 製紙に関するあらゆる物質の分析に用いられてきました。パルプ・填料、サイズ剤、リテンションエイド、各種強度補強剤、顔料、ラテックス、脱墨剤などの定性、定量にKBrペレット透過法が利用できます。有機溶剤でフィルムを形成するような高分子などは、KRS-5でできた試料板上でフィルムを調製し透過法で測定できます。ラテックス中のスチレンとブタジエンのように芳香環の2重結合と、ブタジエンの2重結合の吸収波数が明瞭に分かれていれば両者を区別し、ラテックス中の両者の比率を求めることができますが、パルプ中のセルロースとヘミセルロースのようにともに多糖類で、両者を区別できる吸収がなければこれを区別することはできません。またパルプを含む試料では、ほとんど必ず水を僅かに含んでおり、この僅かな量の水の影響で1,600 cm⁻¹付近に水の変角振動による比較的大きな吸収が現れます(図4)。従って、パルプの僅かな酸化などをチェックする場合などもこの領域の吸収が重なって解析が難しい場合があります⁶⁾。FT-IRを用い、ATR法あるいは拡散反射法でAKDサイズ処理シート中のAKDを分析した報告があります^{7,8)}。しかし対パルプ0.1%程度の添加量の物質の定性はいくら積分したところで難しいようです。一方、FT-IRを用いたATR法による塗工紙表面の塗工層中の顔料であるクレイや炭酸カルシウムの分析法が報告されており⁹⁾、検量線の作製やSEM-EDXとの相関などが検討され、定量法として確立されつつあります。原紙の分析法としてのATR法によるFT-IR分析は、填料の定性分析などには応用できますが、微量なサイズ剤やリテンションエイド、デンプンその他の添加剤の定性には限界があります。その点、塗工紙表面は平滑で十分な光量も得られるので、顔料、ラテックス分析にATR法によるFT-IR分析を用いることはその特徴を生かした分析法の一つと言えます。前述したように、ATR法では表面から数μmの深さの情報しか得られませんから、塗工層の深さ方向の不均一性に留意しなければなりません、逆に言えば深さ方向の不均一性(ラテックスのマイグレーションなどの)についての知見が得られる可能性もあります。

Q: ラマン分光分析の装置について説明してください。

A: ラマン分光装置の概略を図5に示しました。前述しましたように、ラマン散乱光は弱く、一方その強度は照射する単色光の強度に比例しますから、現在ではレーザー光を光源として試料に照射するシステムになっています。マクロ法ではレーザー光を試料に直接、あるいは試料溶液の入った石英セルに照射し、そこから散乱する光の中からラマン散乱を分離し、検出後コ

図5 レーザーラマンシステムの概観

ンピュータ処理されて図2のようなラマンスペクトルが得られます。一方、ラマンマイクロ法では、まず顕微鏡で照射する部分を設定し、次にレーザー光を顕微鏡を通じて照射し、ラマン散乱光を集光します。ラマン分光では散乱光を解析するので、散乱光が石英容器やレンズを通過しても何ら問題はありません。この点に関しては顕微IR法よりも取扱い易いと言えます。ラマン分光法の適用により、内容は異なりますが基本的にはIR同様、物質の瞬間的な1次、および2次構成に関する情報が得られます。

ラマン分光の長所としては、水のラマンスペクトルが弱く、溶液状態の測定においても溶質のスペクトルを妨害しません。もちろんフィルム、繊維、その他の固体試料でも問題ありません。またレーザー光は細く機動性が優れています。このような長所を生かして、これまでタンパク質の溶液中のコンフォメーション解析や、生理活性物質-タンパク質複合体、核酸-タンパク質複合体、脂質、膜、セルロースなどの炭水化物の構造解析などに応用されてきました¹⁾。また図5にも示しましたように、IR同様、偏光レーザー光を照射できるので、材料中の分子の配向なども検討できます。

一方、ラマン分光の短所としては図1に示しましたように、可視光領域に発色団を有する試料に、その電子状態を励起するような波数のレーザー光を照射してしまうとラマン散乱に比べて圧倒的に強い蛍光が発生してスペクトル中に強いバックグラウンドとして現れてしまい、弱いラマン散乱を隠してしまいます。これらのバックグラウンドは試料中にごく少量含まれる不純物や発色団によって発生するため、場所によってはこれらの影響を除くことが困難な場合があります。見

た目は白色の試料でも、明瞭なバックグラウンドが現れることがあり、この様な場合は、経験的にレーザー光を一定時間照射してバックグラウンドの原因となる物質を分解する方法がありますが¹⁰⁾、この様な処理により、同時に試料中の大事な部分も副反応を受ける可能性があります。レーザー光による熱の影響も考えなければなりません。このように、よいラマンスペクトルを得るにはある程度の試行錯誤を要し、その点ではIRほど容易ではありません。また現在では装置自身の値段もIRは数百万円台からありますが、ラマンのシステムは最低でも数千万円台になってしまいます。

Q: ラマンの分析の製紙研究への応用の可能性はどうですか。

A: ラマン分光の製紙研究への応用例はこれまでほとんどなく、セルロースの構造解析¹¹⁾、材料細胞壁中のリグニンの芳香環の配向¹²⁾、GPの着色物質の同定¹³⁾などの研究にラマンマクロ法、ラマンマイクロ法が用いられたにすぎません。何と言っても、まだラマン分光装置の値段が高く、試料調製法や蛍光などによるバックグラウンドの低下技術など細かな技術を要しますから、汎用機器としてはまだ難しいかも知れません。しかし、前述したラマン分光の利点は十分に製紙分野への応用の可能性があり、近年市販されるようになった近赤外のレーザー光を光源とするFT-ラマン装置などの普及により、利用の可能性も高まると思います。

それでは、次回は固体表面分析法について述べてみたいと思います。

文 献

- 1) P. R. Carey, 伊東紘一ら訳, ラマン分光学, 共立

- 出版 (1984)
- 2) 飯塚堯介 (東京大学農学部), 私信
- 3) 錦田晃一, 西尾悦雄, チャートで見る FT-IR, 講談社 (1990)
- 4) 錦田晃一, 岩本令吉, 赤外法による材料分析, 講談社 (1991)
- 5) 日本化学会編, 分光分析化学, 大日本図書 (1988)
- 6) K. Terasawa, M. Matsukura and K. Hata, Preprints of 1988 Spring Conference CPPA, Session 4 A-2 (1988)
- 7) L. Odberg, T. Lindstrom, B. Liedberg, and J. Gustavsson, Tappi J., 70 (4), 135 (1987)
- 8) P. Rohringer, M. Bernheim, and D. P. Werthemann, Tappi J., 68 (1), 83 (1985)
- 9) 立花龍彦ら, 第 58 回紙パルプ研究発表会要旨集, p. 124 (1991)
- 10) R. H. Atalla (米国農務省林産研究所), 私信
- 11) R. H. Atalla, Appl. Polym. Symp., 28, 659 (1976)
- 12) R. H. Atalla and U. P. Agarwal, Science, 227, 636 (1985)
- 13) U. P. Agarwal and R. H. Atalla, J. Wood Chem. Technol., 10, 169 (1990)
-