論文要旨

総合論文 ペプチドアミロイド繊維状構造体の構築と制御

三原久和

東京工業大学大学院生命理工学研究科 科学技術振興事業団 基礎的研究発展推進事業
(〒226-8501 横浜市緑区長津田町 4259)

ポリペプチドなどの生体高分子の自己組織化構造体は、天然の生物システムの重要な構成要素である。その中でペプチドアミロイドは、タンパク質のミスフォールド体が形成する繊維状の分子集合体である。従って、アミロイド繊維は生体分子としては望ましくない構造体であるが、一方では、無数の β ストランド二次構造が規則正しく組織化されてきた組織化構造体であると考えられることができる。このような観点から、アミロイド繊維は生化学的研究のみならず、工学的材料研究の面からも注目を集めている。

本論文では、ペプチド、タンパク質の立体的構造特徴を述べ、アミロイド様繊維を形成する人工ペプチドの設計とそれらを利用したアミロイド繊維の阻害剤開発や多種類のペプチドが集合化した β ペプチドアレイの構築について報告する。

(連絡者：三原久和) Vol.3, No.5, 233 (2003)

総合論文 赤外分光法によるソフトマテリアルの構造物性解析

長谷川 健

日本大学生産工学部 応用分子化学科 (〒275-8575 習志野市泉町 1-2-1)

赤外分光法は、ソフトマテリアルからなる薄膜の膜構造や表面物性を研究する上で、最も有用な分析手段として知られている。しかし、これまで赤外分光法は、ごく限られた用途でしか活用されておらず、たとえば分子配向の半定量的な議論や、水素結合の状態などが議論されてきたに過ぎない。本稿では、赤外分光法をソフトマテリアル薄膜に利用する最近の試みをご紹介します。これらは、今後の材料科学で新しい物性の理解に、幅広い利用が期待されるものである。

(連絡者：長谷川 健) Vol.3, No.5, 241 (2003)

赤外分光法によるソフトマテリアルの構造物性解析

Analyses of Structure and Properties of Softmaterials by Infrared Spectrometry

長谷川 健

日本大学生産工学部応用分子化学科
〒 275-8575
習志野市泉町 1-2-1

Takeshi HASEGAWA
Nihon University, College of Industrial Technology
1-2-1 Izumicho, Narashino-shi
275-8575, Japan

Abstract: Infrared spectroscopy is one of the most useful analytical tools to study molecular architecture and surface properties of thin films comprised of softmaterials. Thus far, however, the infrared spectroscopy has mainly been used for discussion of limited purposes such as investigations of semi-quantitative molecular orientation and of the state of hydrogen bonding formed in the film. In this manuscript, recent progress of infrared spectroscopy for studying thin softmaterials is presented, which is expected to have great potential to reveal new characteristics of the materials.

Key words: Softmaterial, Infrared Spectrometry, Organic Thin Films, Molecular Orientation, Dielectric Property, Analysis of Trace Molecule

1 はじめに

20 世紀の材料実験物理は、分光学の急速な進歩と固体物理の理論的な整備に支えられ、主に金属・無機材料の構造物性解析の分野を中心に大きく発展した。実際、固体物性物理の理解が進んだおかげで半導体の理解が飛躍的に進み、日本をはじめとする世界の新しい産業と電子技術が生まれ、世の中が一変するほどのインパクトがあった。これは、青色発光ダイオードの開発に代表されるように、最近になっても研究の重要な流れのひとつになっていることは間違いない。

こうした大成功を前に、有機化合物を利用した新しい機能性材料を作ろうとする動きも活発化した¹⁾。有機化合物は、新しい物性をにらんだ分子設計の自由度が非常に大きいことや、原材料物質の範囲が幅広く、また金属・無機結晶にはない柔らかい機械的材料特性も得られることから、化学分野から多くの研究者を引き込み、金属・無機材料の素子を置き換えるような材料の開発や、新しい機能の発現に力が注がれている²⁾⁻⁴⁾。これら有機化合物を元にした高分子や薄膜などの材料は近年ソフト

マテリアルと呼ばれ、活発な研究が広い分野にわたって発展してきている。

しかし、固体物理の流儀で実験研究を進めようとする、ソフトマテリアルは非常に難しい研究対象といえる。最大のポイントは、無機結晶のような原子の精密な周期性のない場合が多く、固体物理を支えてきた Bloch 波近似などが使えず、理論的に扱いにくい点にある。このため、実験的にもすっきりとした議論がやりにくく、物理・化学の複合領域にあるにもかかわらず、隙間領域となってしまった感がある。

本稿では、振動分光法の中でもひととき測定が簡便で得られる情報量も多い赤外分光法を用いて、ソフトマテリアルの構造・物性を解析する最近の方法を紹介する。赤外分光法は、きわめて高感度に有機化合物の化学構造を決定する手段として広く用いられるほか、水素結合や分子のコンフォメーション変化に非常に敏感であるため、ソフトマテリアルの物性と構造の関連を研究する上で欠かせない方法として、すでに確立されている。しかし、振動スペクトルの持つ可能性はそれだけではない。筆者らは、赤外分光法を用いて、固体物理で議論されてきたような格子振動などを通じてソフトマテリアルの物性の解析に挑戦したり、有機薄膜の光学物性の解析、さ

連絡者：長谷川 健
E-mail: t5hasega@cit.nihon-u.ac.jp

らに光学パラメーター不要の分子配向解析法の開発などを手がけたりしてきた。こうした最近の新しい赤外分光法を利用した、ソフトマテリアルの研究動向について、テーマを絞って概説する。

2 有機超薄膜の分子配向解析

2.1 Langmuir-Blodgett 膜の分子配向解析

有機超薄膜の中でも Langmuir-Blodgett (LB) 膜は、両親媒性化合物を水面上に二次元的に広げたものを、面内方向に圧力をかけて凝集させ、固体基板上に転写したものである⁵⁾。LB 膜は一分子程度の厚さを持ち、分子薄膜としては極限的な薄膜を簡単に構築できる上、累積することで厚みも分子スケールで制御できる利点があり、古くから機能性薄膜の旗手として注目されてきた。

膜面内の分子にかかる圧力は、通常、表面圧という単位で表され、SI 系では表面張力と同じ mNm^{-1} という次元を持っている。Fig.1 に示すような表面圧-面積 (π -A)

Fig.1 純粋上で測定したステアリン酸単分子膜の表面圧 (π) - 面積 (A) 等温曲線 (25°C)。

曲線には、水面上に作成したステアリン酸の展開単分子膜 (Langmuir 膜または L 膜) の面積を縮めたときの表面圧変化が現れており、急激に圧力の上がる直線部分 (固体膜に相当) を外挿すると、膜分子の一分子あたりの占有断面積が求められる。固体膜の圧力として 30 mNm^{-1} を例にとって、この圧力について考えよう。ステアリン酸単分子膜の厚さはおよそ 2.5 nm だから、普通の圧力に換算すると $1.2 \times 10^7 \text{ Nm}^{-2}$ と計算でき、これは 118 気圧に相当する。つまり、水面上のゆらゆらとした柔らかそうな膜とはいえ、かなりの高压が分子にかかり、分子のコンフォメーションや官能基の配向に影響していることが推測できる。このような一種の高压化学が、膜面内方向だけに実現しているというのは、分子を詰め込む立場から見ると非常に興味深い環境である。

これだけ大きな圧力がかかっているからこそ、水面上

展開単分子膜やそれを固体板上に転写した LB 膜中の分子は配向性を示すようになり、この配向を官能基単位で調べる方法が求められるのである。粉末 X 線回折法を使って、積層した LB 膜の回折パターンを測定する方法でも膜の厚さが求まり、分子全体の配向を求めることは可能だが⁶⁾、各官能基を個別に調べることは難しく、電子散乱因子の小さな分子や積層していない薄膜には適用できないことも多い。ラマン分光法のような、レーザー分光法も有力な測定・解析手段になりうるが、照射電磁波のエネルギーが強いと、ソフトマテリアルの構成分子を破壊する恐れがある点がしばしば問題になる。一方、赤外分光法は、マイルドな測定環境で実験でき、かつ得られる分子情報の量が極めて豊かであることから、もともとソフトマテリアル解析に適した分光法なのである。

一般に、吸収分光法での吸光度 $A(\nu)$ は、波長 ν において次のような Beer-Lambert (B-L) の法則⁷⁾ に従うことが知られている。

$$A(\nu) = a(\nu)bc \quad (1)$$

ここで、 $a(\nu)$ 、 b 、 c はそれぞれ吸光度係数、試料の厚さ、試料濃度である。単分子膜の場合は、 b 、 c をそれぞれ膜厚、分子密度と読み替えればよい。ここで注意すべきは、吸光係数 $a(\nu)$ が波長の関数であるだけでなく、テンソル量であるという点である。すなわち、測定に使う電磁波の電場ベクトルの向きによって変わり得る量なのである。LB 膜は、高压で分子が膜面内で向きを揃えられた膜だから、光と相互作用する双極子モーメントに異方性が生ずるのである。逆に、この光学異方性さえスペクトルから解析できれば、分子の配向が官能基単位で読み取れることになる。

まず、最も簡単な例として、ステアリン酸カドミウム 5 層 LB 膜の赤外スペクトルを Fig.2 に示す。Fig.2(a) は薄膜を赤外線に透明な CaF_2 基板上に累積し、そこへ赤外線を垂直に入射した場合のスペクトルで、単に“透過スペクトル”と呼ばれるものである。一方、Fig.2(b) は同じ薄膜を金基板上に積層し、そこへ大きな入射角（ここでは膜法線から 80 度）で赤外線を入射し、その反射スペクトルを測ったもので、一般に反射吸収 (RA) スペクトルと呼ばれる⁸⁾。一目瞭然なのは、透過スペクトルに強く現れているバンドは RA スペクトルに弱く現れ、その逆も成り立っていることである。これは、透過法では入射赤外線の電場ベクトルが膜面に平行になっているのに対し、RA 法では膜面に垂直な電場ベクトルが生ずるため、薄膜の構造異方性が明確な形で現れた結果である。異方性のないバルクな (等方性) 試料ならば、両方のスペクトルに同じ形のスペクトルが現れることになる。

Fig.2 ステアリン酸カドミウム 5 層 LB 膜の(a)赤外透過スペクトル (CaF₂ 基板) と(b)赤外反射吸収 (RA) スペクトル (金基板上)。入射角は(a)が 0° (b)が 80° で、(a)は非偏光、(b)は p 偏光赤外線による測定。

このように、透過スペクトルと RA スペクトルは、それぞれ膜の面内・面外構造異方性を端的に反映した相補的なものなので、両方のスペクトルのバンド強度比から分子配向を定量的に求めることは、原理的に可能である。ただしこれには、薄膜内に生じている電場の偏りと大きさを見積もることが必要である。RA スペクトルは、膜近傍に強い電場を生ずるため高感度測定法としても知られているのだが、‘バンド強度の比較’という点から見ると、電場の増強率を詳しく見積もることが出来ない、透過スペクトルとの比較が出来なくなるわけである。とはいえ、電場強度の絶対値は必要ではなく、入射光の電場強度に対する相対強度さえ計算できれば良い。透過・反射現象を詳しく考えると、薄膜内での光の多重反射を考える必要があるが、幸いなことに LB 膜は厚さが揃っているためこうしたモデル計算に合う結果が得られる。透過・反射率を計算する、いわゆる Fresnel の式を使えば、こうした量は簡単に計算できる。しかし Fresnel の式は多重反射を考慮に入れているものの、膜の異方性が全く考えられておらず、分子配向解析に使えない点が問題である。

この問題を克服するため、筆者らは、Drude による二層界面系での光学異方性の理論⁹⁾ と、Hansen による任意の多層薄膜系 (N 層) での光学等方性理論¹⁰⁾ を合併させる理論を構築した¹¹⁾。以下に概略だけ示す。

$$\tilde{\mathbf{M}} = \tilde{\mathbf{M}}_2 \tilde{\mathbf{M}}_3 \cdots \tilde{\mathbf{M}}_{N-1} \quad (2)$$

$$\tilde{\mathbf{M}}_j = \begin{bmatrix} \cos \tilde{\beta}_j & \frac{-i}{\tilde{q}_j} \sin \tilde{\beta}_j \\ -i \tilde{q}_j \sin \tilde{\beta}_j & \cos \tilde{\beta}_j \end{bmatrix} \quad (3)$$

ここで、

$$\tilde{q}_j = \frac{\tilde{\xi}_j}{\tilde{n}_{jo} \tilde{n}_{je}} \quad \text{ただし} \quad \tilde{\xi}_j = (\tilde{n}_{je}^2 - \tilde{n}_{jo}^2 \sin^2 \theta_1)^{1/2} \quad (4)$$

$$\tilde{\beta}_j = \frac{2\pi}{\lambda} h_j \frac{\tilde{n}_{jo}}{\tilde{n}_{je}} \tilde{\xi}_j \quad (5)$$

である。このうち、添え字の j は積層薄膜の層番号を表

Fig.3 N 層系薄膜の光学計算用モデル。

し、(2)式は両端 (通常、空気層) を除くすべての薄膜層に関する項の積を表す (Fig.3 参照)。また、(4)および(5)式が光学異方性を導入する上で、肝要な部分である。式中の $\tilde{n}$ は複素屈折率を表し、添え字の o および e は、膜面内方向および膜面外方向の値であることを示す。すなわち、 $\tilde{n}_o \neq \tilde{n}_e$ なら異方性があると考え。この理論の肝は、このわずかに二つの式に異方性に関するパラメーターを入れるだけで、光学計算全体に異方性を導入できる点にある。たとえば、p-偏光 (Fig.3 参照) の反射係数や透過係数は、次式のように計算できる。

$$\tilde{r}_p = \frac{(\tilde{m}_{11} + \tilde{m}_{11} q_N) q_1 - (\tilde{m}_{21} + \tilde{m}_{22} q_N)}{(\tilde{m}_{11} + \tilde{m}_{11} q_N) q_1 + (\tilde{m}_{21} + \tilde{m}_{22} q_N)} \quad (6)$$

$$\tilde{t}_{Hp} = \frac{2 \tilde{q}_1}{(\tilde{m}_{11} + \tilde{m}_{11} q_N) q_1 + (\tilde{m}_{21} + \tilde{m}_{22} q_N)} \quad (7)$$

ここで、 $\tilde{m}_{ij}$ は $\mathbf{M}$ の成分で、添え字の p は p 偏光についての計算式であることを表す。これ以外の詳細は文献に譲るが、こうした計算を元に、異方性のある薄膜の反射率などを計算し、吸光度を求めていけることがおおよそわかりいただけることと思う。

2.2 赤外外部反射分光法

上記理論を最も効果的に反映する実測例を見ながら考え

Fig.4 GaAs 基板上に作成したステアリン酸カドミウム 9 層 LB 膜の p 偏光赤外外部反射スペクトル。入射角によるスペクトル変化を示す。

てみよう。Fig.4 は、GaAs 基板上に作成したステアリン酸カドミウム 9 層 LB 膜の赤外外部反射スペクトルを、s, p 両偏光で測定した結果である。縦軸は反射光学系で測定したときの吸光度で、通常、反射吸光度と呼ばれる。“吸光度”軸であるにもかかわらず、s 偏光スペクトルはすべてのピークが負の方向を向いている。負の吸光度という、まるで発光スペクトルのような響きがあるが、実際には吸収のある材料表面の反射率の方が、吸収のないときに比べて高くなっていることに対応している。この負の吸光度は、上述の理論式から計算で再現できる。反射吸光度の計算値を、横軸を入射角にして Fig.5 にプロットした。CH₂ 伸縮振動バンド（バルクの吸収係数が 0.2）が完全面内配向した場合（xy）と完全面外配向した場合（z）について、s, p 両偏光に関する計算値である。

これによると、s 偏光の反射吸光度は入射角によらず常に負である（点線）。また、官能基の配向がどうであれ、絶対に正のピークは現れないことがわかり、これは Fig.2 の実験とよく一致している。一方、p 偏光は複雑で、入射角が Brewster 角 (θ_B) より小さいときは面内配向の官能基に対しては負の反射吸光度を与えるが（破線）、面外配向に対しては正のピークを与える（実線）。また、入射角が Brewster 角を超えると、この関係は逆転することも読み取れる。

Fig.4 の実験に用いた GaAs 基板の屈折率は 3.28 (2,900 cm⁻¹) だから、Brewster 角は 73 度である。したがって、Fig.4 の p 偏光による結果（入射角 50 度）は Fig.5 の関係に沿うはずである。実際、CH₂ 対称・逆対

Fig.5 GaAs 基板上のステアリン酸カドミウム 9 層 LB 膜を赤外外部反射法で測定した場合の理論的に予想される反射吸光度（計算値）。

称伸縮振動 (2,918, 2,850 cm⁻¹), COO⁻ 逆対称伸縮振動 (1,540 cm⁻¹), CH₂ はさみ振動 (1,472, 1,462 cm⁻¹) はいずれも負のバンド与え、膜面に平行な振動遷移モーメントであることがわかる。それに対し、COO⁻ 対称伸縮振動 (1,434 cm⁻¹), CH₂ 縦ゆれ振動 (1,400 cm⁻¹ 付近のぎざぎざ) は正のバンドとなっており、膜面に垂直な方向の振動であることが示唆される。これらは、実際の膜の構造と完全に対応しており、非金属基板上での外部反射分光が、いかに分子配向を鋭敏に反映する方法であるかが、端的に示されている。もちろん、計算値と実測値の対応から分子配向を求めることも可能である¹¹⁾。

なお、この計算方法は、金属面上での RA スペクトル解析にも適用可能¹¹⁾ で、異方性を考えた光学計算は大変便利である。

2.3 Langmuir-Blodgett 膜の誘電物性解析

前節の方法は、原理的にはあらゆる系での吸着膜の分子配向解析に適用できる、汎用性の広いものである。しかし実際には、Fig.5 に相当する計算をする上で膜や基板の光学定数を詳しく知る必要があり、解析の障害となることが多い。そこで、膜の誘電関数を物理的なモデルで“表現”し、パラメータの最適化を通じて、膜の誘電物性と構造異方性の両方を一度に解析する試みを行った¹²⁾。

分子の振動は、減衰を伴う単振動モデルで表現でき¹³⁾、各基準振動に対応する振動子は、化学結合の電荷を通じて電場によって揺さぶられる。この様子は、複素誘電率関数 $\tilde{\epsilon}(\nu)$ として次のようにまとめられる。

$$\tilde{\epsilon}(\nu) = \epsilon_{\infty} + \sum_j \chi_j = \epsilon_{\infty} + \sum_j \frac{4\pi\rho_j\nu_{0j}^2}{\nu_{0j}^2 - \nu^2 - i\gamma_j\nu} \quad (8)$$

ここで、 ϵ_{∞} は赤外線吸収に無関係な誘電率の基本的な値で、 ν_{0j} は吸収バンド j の位置、 γ はバンド幅に関する減衰係数、分数項の分子は振動子強度と呼ばれるバンド強度に対応する量である。これをスペクトル中のバンドの数だけ用意して、 Σ で重ね合わせる。この関数を、面内・面外の両方向に用意し、これをもとに反射吸光度を異なる二つ以上の入射角で計算する。この計算値を、対応する入射角で測定した2つ以上の外部反射スペクトルと比較しながらパラメータを収束させる。このように、パラメータを最適化して実験値に合わせるといふ基本的な考え方は、固体物理では常套手段となっている¹⁴⁾。ただし、ここでは異方性を取り入れて複数のスペクトルを同時に最適化している点が味噌である。実際には、Kimらによる関数¹³⁾を導入して収束が早まるように工夫した。

Fig.6は、この計算によって得られた複素屈折率の分散を、面内・面外方向に分けて示してある。最適化によって決まった誘電率分散から屈折率分散への変換は、 $\tilde{n} = \sqrt{\tilde{\epsilon}}$ という簡単な関係からすぐに計算できる。この図で一番重要なのは、面内・面外での吸収係数 k の分散が、透過・RAスペクトルと完全に対応していることである。これは、Fig.4のような複雑な外部反射スペクトルから、正しく純面内・純面外情報を引き出したことを意味している。このようなことができたのは、p偏光外部反射スペクトルに面内・面外成分が常に両方含まれていて、かつ入射角や配向に極めて鋭敏だからである。こうした解析は、透過・RA・ATR法などでは真似ができない。

一方、屈折率の実部(n)の分散を見ると、吸収のない場所での値が、面内と面外とで異なっていることがわかる。たとえば $3,100\text{ cm}^{-1}$ 付近を見ると、 n は面内で1.5を下回り、面外では1.5を上回っている。この屈折率実

Fig.6 Fig.4のスペクトルを元に振動子モデル法で解析した、複素屈折率の波数分散の面内・面外異方性。

部の異方性は、以前からエリプソメトリーの測定などで指摘されてきたことと一致しており¹⁵⁾、Fig.6は、赤外スペクトルを測定するだけで、こうした誘電物性に関する知見を得られることを示すものである。

ここでは詳しくは述べないが、求めた異方性に関する誘電関数の振動子強度から、各官能基の配向を計算することができる¹²⁾。つまり、赤外分光法を利用したこの方法を使えば、膜の光学物性と構造異方性が、同時に解析できるのである。モデル関数の最適化という点だけが、やや扱いにくい、有用な解析方法のひとつといえる。

2.4 多角入射分解分光(MAIRS)法

こうして、光学定数を知らなくても構造異方性を解析する道が、赤外外部反射法によって拓かれた。しかし、それでも超えられない大きな問題点がひとつ残っている。それは、試料の“厚さ”である。上で述べた方法は、均一な厚みを持つLB膜のような試料内部での、理想的な多重反射を仮定したFresnelの式に基づいている。このため、厚みが不均一な試料や、厚みが全くわからない試料は解析することができない。これは、物理計測法としては大きな限界で、ソフトマテリアル一般の性質には対応できないことになる。筆者は、これに対応できる、全く異なる解析方法を最近提案した¹⁶⁾。

その前に、従来の方法が、なぜ複雑な光学計算を必要としたのかを考えておこう。2.1節でも述べたように、薄膜の分子配向解析の基本は、透過スペクトルとRAスペクトルを比較することにある。もし、この二つの分光法によって得られるスペクトルが、同じ強度スケールで扱えるのなら、バンド強度の比を取るだけですぐに配向角に結び付けられるはずである。しかし、RA法には高感度測定法というメリットがある分、透過法とは全く異なるスケールと強度の波数分散がある。このため、透過法とRA法のスペクトル強度を単純に比較できないことになる。この二つの方法が異なる基板を使っている以上、こうした解析の複雑化は残念ながら避けられないといえる。このように、原理的にはわかりやすい“透過+RA”の組み合わせ解析も、実際に解析しようとするとき意外と厄介であることがわかる。

そこで、高感度というメリットを捨てて、単に面外モードスペクトルを測定することだけを考えたのだろうか。今もし、光の進行方向に平行な電場ベクトルを持つ光があったとしたら (Fig.7)、垂直入射の透過測定をするだけで面外モードスペクトルが測れることになる。この考え方はアイデアとしては面白いが、そのような光がない以上、もちろん直接の測定はあきらめざるを得ない。

Fig.7 多角入射分解分光法 (MAIRS) の基礎となる考え方の概念図。

しかしである。仮にその超常的な光が手に入って、そのときの透過光強度が s_{OP} と測定できた場合を想定してみる。対応する面内モードスペクトルは、普通の透過測定で実現するから、こちらの強度 s_{IP} は簡単に実測可能である。そこで、 s_{IP} と s_{OP} を使って、斜入射の非偏光透過測定光強度 s_{obs} を表現してみる。

$$s_{obs} = r_{IP}s_{IP} + r_{OP}s_{OP} \quad (9)$$

斜入射光の基板に平行・垂直成分を s_{IP} と s_{OP} とに対応させ、その混合比率を r_{IP} と r_{OP} で表現している。ここで注意したいのは、決して吸光度を分解しようとしていたのではなく、“入射電場の成分分配を s_{IP} と s_{OP} を用いて表現しただけ” という点である。これを異なる複数の入射角で測定すれば、次のように拡張・整理できる。

$$S \equiv \begin{pmatrix} s_{obs1} \\ s_{obs2} \\ \vdots \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} r_{IP1} & r_{OP1} \\ r_{IP2} & r_{OP2} \\ \vdots & \vdots \end{pmatrix} \begin{pmatrix} s_{IP} \\ s_{OP} \end{pmatrix} + E \equiv R \begin{pmatrix} s_{IP} \\ s_{OP} \end{pmatrix} + E \quad (10)$$

入射角を変えてシングルビームスペクトルを測定すれば、(10)式の S は決まるから、 R さえ理論的に決まれば、classical least squares (CLS) 回帰計算によって、直接測定のできない s_{OP} まで計算で求められることになる^{(16),(17)}。 R の導出についての詳細は文献に譲るが、次式のようにになっている。

$$R = \left(\frac{4}{\pi} \right)^2 \begin{pmatrix} 1 + \cos^2 \theta_j + \sin^2 \theta_j \tan^2 \theta_j & \tan^2 \theta_j \\ \vdots & \vdots \end{pmatrix} \quad (11)$$

CLS 回帰は、強い線形性を持つ回帰式であるため、複

数の入射角に連動させた R の成分に比例するスペクトル変化だけが、 s_{IP} および s_{OP} として抜き出される。このため、膜や基板の光学定数には関係なく、入射光の面内・面外成分への電場の寄与と、吸収のある双極子モーメントの配向角情報だけが、シングルビームスペクトルに現れる。この方法を、多角入射分解分光法 (multiple-angle incidence resolution spectroscopy; MAIRS) という⁽¹⁶⁾⁻⁽¹⁸⁾。

あとは、この解析をサンプルとバックグラウンドについて両方行い、求まった二組の s_{IP} と s_{OP} を使って、吸光度スペクトルに換算すればよい。Fig.8 に、ゲルマニ

Fig.8 Ge 基板上で測定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。

ウム基板上に作成したステアリン酸カドミウム 5 層 LB 膜を、MAIRS 法で測定・解析した結果を示す。面内 (IP) と面外 (OP) の二つのスペクトルは、それぞれ従来の透過・RA スペクトル (Fig.2) によく対応している。大書したい点は、“純面外スペクトルが初めて非金属基板上で測定できた” という点である。従来の感覚からすれば、Fig.8 の OP モードスペクトルは金属表面上での RA スペクトルそのものである。通常 Ge のような非金属基板上で反射測定をすると、Fig.4 のように複雑なスペクトルパターンを示し、RA スペクトルに相当する測定はできない、という常識がある。しかし、MAIRS 法により従来の測定概念が覆され、純面外モードが非金属基板上でも測定できるようになったことがわかりいただけると思う。また、MAIRS では偏光子を使用せずに、偏光測定に相当するスペクトル情報を得ている点も強調しておきたい。このため、偏光子の偏光純度の問題を考える必要がなく、正確な偏光測定結果が得られる。

MAIRS は、分子配向解析にも力を発揮する。この方法は、元来、Fig.7 のような仮想的な垂直透過光測定を

想定している。このため、面内・面外モードのいずれのスペクトルも同一の強度スケールで扱うことができる。RA法では、金属面での反射が高感度というメリットを生んだ反面、透過法との強度比較に詳細な光学計算を必要とするデメリットも生じた。MAIRS法では強度増大がない代わりに、面外モードスペクトルを面内モードと対等に比較できるのである。したがって、配向解析という視点から見れば、MAIRSは従来の方法にはない画期的な長所をもっているといえる。

電場ベクトルの自由度は、面内では二次元であるのに対し、面外には一次元方向しか持たないので、ひとつの遷移モーメントは面外モードに、面内より二倍強い吸光度を与えることが予想される。実際、面外モードスペクトルは強く現れるため、吸光度の強度を対等にするには面内モードを2倍する必要がある。このことから、官能基の平均分子配向角 φ は

$$\varphi = \tan^{-1}(\sqrt{2I_{IP}/I_{OP}}) \quad (12)$$

と求まる¹⁶⁾。ここで、 I_{IP} と I_{OP} は面内・面外スペクトルのバンド強度である。つまり、MAIRSスペクトルを測定できれば、二つのスペクトルのバンド強度を測定し、その強度比を測るだけで簡単に配向角が計算できるのである。この際、光学定数を一切使わずに解析ができることに注目していただきたい。

さらに、“光学定数を必要としない”ということは、単に膜や基板の誘電関数を知らなくても良い、という意味だけではなく、膜の“厚さ”も知らなくて良いということなのである。実は、これこそがMAIRS法の最大の長所ではないかと思っている。すなわち、従来の赤外分光法による薄膜解析がLB膜に限定されてきた理由が、“均一で既知の厚みを持った薄膜”という厳しい条件によるものであったのに対し、MAIRSはこの解析限界を克服したのである。これによって、LB膜はもとより、キャスト膜や高分子薄膜の解析が一気に視野に入ることになり、ソフトマテリアル解析での赤外分光法の価値が、大いに高まることを期待している。

面外モードが測れるようになったメリットを感じられる、簡単な実験例を次に示す¹⁹⁾。Fig.9は、再生したゲルマニウム基板（赤外線に透明な材料）に累積した、ステアリン酸カドミウム塩5層LB膜のMAIRスペクトルである。再生基板とは、Fig.8のスペクトル測定の際にLB膜をつけたゲルマニウム基板を、使用後に超音波洗浄でよく洗って再生した基板のことで、これまではごく一般的にこのような再生基板が、繰り返しLB膜作成に使われてきた。Fig.9の面内モードスペクトルを見ると、Fig.8のものと酷似しており、特に波数位置などは全く同じである。このため、従来、再生基板はLB膜作成に

Fig.9 Fig.8と同じ測定を、超音波洗浄により再生したリサイクル基板上で行った結果。

それほど問題がないと思われ、使われてきたのである。しかし、面外モードスペクトルを見ると、Fig.8とFig.9は明らかに異なるパターンを示している。これまで、ゲルマニウム基板の薄膜の、面外モードをそのまま測ることができなかったため、このような明確な差異に気づくことはなかったが、MAIRSにより膜構造の違いが明瞭に示唆された。実際、分子配向角を計算して炭化水素鎖の膜法線からの傾き角を計算すると、新しい基板上では 6° 、再生基板上では 15° と求まり、基板表面の再生状態が膜構造に大きく影響していることがはっきりした。

MAIRS法は、CLS回帰法というケモメトリックス²⁰⁾的なアイデアを積極的に利用することで生まれた、全く新しいスペクトル測定概念である。従来のケモメトリックスと大きく異なる点は、吸光度スペクトルを分解するのではなく、シングルビームスペクトルを分解した点にある。これを図式的に言えば、従来のケモメトリックスは意味のわかる“陽の”測定データを直接分解したが、MAIRSではそのままでは意味のわからない“陰の”データを分解し、その後“陽の”データに変換したといえる²¹⁾。つまり、ケモメトリックスがデータ解析の“後”ではなく“中心”に移動したことになり、ケモメトリックスの実験物理における位置を大きく変える方法であるという、学術的意味も強調したい。

3 主成分分析法による微量成分分析

薄膜といえば、微量試料の代表的なもののひとつであるため、その中にある更に微量な化学種の解析などほとんど省みられたことがなかった。これは、分光器の測定感度によるところも大きいですが、混合微量成分のわずかなスペクトルが、他の主要化学成分の強いスペクトルに隠れて全く見えなくなることの方が、大きな要因だったと

いえる。MAIRS でケモメトリックス的アイデアを使ったように、この微量分析でもケモメトリックスは大いに役に立つ。

Fig.10 は、リン脂質 (dipalmitoylphosphatidyl choline; DPPC) 単分子薄膜とショ糖の相互作用を、赤外 RA スペクトルで測定したもので、ショ糖の濃度変化によってスペクトル強度が変化している²²⁾。ショ糖に起因するバンドの大きな変化は一目瞭然だが、肝心のリン脂質との相互作用を知るためのリン酸基のバンドなどは埋もれてしまい、これ以上の議論ができない。生体試料を扱う場合など、このような状況に出くわすことが非常に多く、振動分光法の情報量の多さがかえって裏目に出た印象がある。

こうしたスペクトルに、主成分分析法 (principal component analysis; PCA²³⁾) を適用すると、微小なシグナルを選択的に拾い出せることが最近わかった^{20),22),24)-27)}。PCA は、測定したスペクトルの束を (10) 式のように行列とし、これを正方向行列化した後、特異値分解²³⁾ によって直交ベクトルの級数に展開する方法である。得られた直交ベクトル (固有ベクトル) は、一般に物理・化学的な意味を全く持たないが、強度差の大きなスペクトルが交じり合っているときには、それぞれの純スペクトルと違って現れることが、近年理論的に説明できた^{22),27)}。

Fig.11 には Fig.10 のスペクトルを PCA で分解したときの、3 番目の固有ベクトルをプロットした。ここに現れている PO_2^- の逆対称伸縮振動バンド ($1,264\text{ cm}^{-1}$) は、強く水素結合したときに現れるもので、生のスペクトルには見えないものである。また、水の OH 伸縮振動バンドが $3,250\text{ cm}^{-1}$ に現れているが、これも水が強い水素結合によってバルクの水とは異なる状態になったときに現

Fig.11 Fig.10 のスペクトルを PCA で解析して得られた第 3 アブストラクトスペクトル (固有ベクトル)。

れるものである。つまり、この固有ベクトルスペクトルは、薄膜中に微量に残存した結合水をとらえたものであり、結合部位がリン酸基であることも同時に示している。

本稿では、理論的な詳細は省いたが、理論的背景が確立されると PCA のような古くからあるケモメトリックス技法を、安心してスペクトル解析に利用することができる。いわゆる“バンド分解”の場合は、二次微分法²⁸⁾ やカーブフィッティングなどでバンドを分解できても、バンド間の相関がわからなかったり、物理化学的な議論に結び付けにくいことが多い。しかし、PCA のような“スペクトル分解”の場合は、分解したものが独立したスペクトルになるため、議論にそのまま使えるところが長所といえる。ケモメトリックスによるスペクトル分解は、まだ発展の余地があり、特にバンド数の多い振動スペクトル (赤外・ラマンなど) には難しい関門が多く残っている²⁹⁾。この点、原理をよく理解して慎重に使えば、PCA によるスペクトル分解は、非常に簡便で強力な解析手段として、今すぐ活用が可能である。

4 まとめ

赤外分光法は、すでにソフトマテリアルの重要な解析手段のひとつとして、広く普及した分析手法ではあるが、決して完成されたものではない。うまく使える例だけが、クローズアップされてきたとも言える。本稿では、ソフトマテリアルを対象とした研究が、どちらかと言うとこれまで苦手としてきた固体物理的物性や構造異方性の解析、さらに微量化学種の検知などに、新しいアイデアの投入により、赤外分光法が強力な手段となりうることを示した。ピークの位置から、分子構造や分子間相互作用などを議論するにとどまっていた時代から、他の分光法では解析の難しい詳細な構造・物性を赤外分

Fig.10 DPPC 単分子膜を異なる濃度のショ糖溶液上で金基板上に転写し、LB 膜としたものの赤外反射吸収スペクトル。

光法で議論できる時代になり、ソフトマテリアルの新しい研究領域を拓く強い牽引力となっていくことが期待される。

謝辞

本研究のうち最近の成果は、文部科学省・科学研究費補助金・特定領域研究(A)“強相関ソフトマテリアルの動的制御”(No. 413/13031074)による資金支援を受けております。また、ひょうご科学技術協会の奨励研究助成も得ております。ここに、これらのご支援に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) M. Bardosova & R.H. Tredgold, *Mol. Cryst. Liq. Cryst.*, **355**, 289 (2001).
- 2) 伊藤耕三, 下村武史, 奥村泰志, 現代化学, **336**, 55 (2001).
- 3) 藤平正道, 応用物理, **69**, 63 (2000).
- 4) 市村國宏(編著), 季刊化学総説 31, 日本化学会 (1997).
- 5) K. Tsujii, *Surface Activity*, Academic Press, London, p. 125 (1998).
- 6) T. Hasegawa, T. Kamata, J. Umemura & T. Takenaka, *Chem. Lett.*, **9**, 1543 (1990).
- 7) P.R. Griffiths, *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, Vol. 3 (J. M. Chalmers and P. R. Griffiths, ed.) John Wiley, Chichester, p. 2225 (2002).
- 8) J. Umemura, *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, Vol. 2 (J. M. Chalmers and P. R. Griffiths, ed.) John Wiley, Chichester, p. 982 (2002).
- 9) P. Drude, *Ann. Physik U. Chem. N. F.*, **32**, 584 (1889).
- 10) W.N. Hansen, *J. Opt. Soc. Am.*, **58**, 380 (1968).
- 11) T. Hasegawa, S. Takeda, A. Kawaguchi & J. Umemura, *Langmuir*, **11**, 1236 (1995).
- 12) T. Hasegawa, J. Nishijo, J. Umemura & W. Theiss, *J. Phys. Chem. B*, **105**, 11178 (2001).
- 13) C.C. Kim, J.W. Garland, H. Abad & P. M. Raccach, *Phys. Rev. B*, **45**, 11749 (1992).
- 14) K. Kudo, Introduction to Optical Solid-State Physics, *Hikaribussei-Kiso*, Ohm-Sha, Tokyo, p.75 (1996).
- 15) M. Paudler, J. Ruths & H. Riegler, *Langmuir*, **8**, 184 (1992).
- 16) T. Hasegawa, *J. Phys. Chem. B*, **106**, 4112 (2002).
- 17) T. Hasegawa, L. Matsumoto, S. Amino, S. Kitamura, S. Katada & J. Nishijo, *Anal. Chem.*, in press (2002).
- 18) T. Hasegawa, *Anal. Bioanal. Chem.*, in press (2003).
- 19) T. Hasegawa, L. Matsumoto, S. Amino, S. Kitamura, S. Katada & J. Nishijo, *Can. J. Anal. Sci. Spectrosc.*, in press (2003).
- 20) 尾崎幸洋, 長谷川健, 現代化学, **361**, 37 (2002).
- 21) T. Hasegawa, *Proceedings of Chemometrics VI*, Brno, Czech, O30 (2002).
- 22) T. Hasegawa, *Anal. Chem.*, **71**, 3085 (1999).
- 23) D.L. Massart, B.G.M. Vandeginste, L.M.C. Buydens, S. de Jong, P.J. Lewi & J. Smeyers-Verbeke, *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics Parts A and B*, Elsevier Science, Amsterdam (1997).
- 24) T. Hasegawa J. Umemura & J. Nishijo, *Chem. Phys. Lett.*, **317**, 642 (2000).
- 25) A. Nakamura, T. Hasegawa, J. Nishijo, M. Kanazawa, K. Aizawa & T. Sota, *Jpn. J. Appl. Phys*, **41**, L440 (2002).
- 26) T. Hasegawa, J. Nishijo, T. Imae, Q. Huo & R.M. Leblanc, *J. Phys. Chem. B*, **105**, 12056 (2001).
- 27) T. Hasegawa, *Tr. Anal. Chem.*, **20**, 53 (2001).
- 28) L.K. DeNoyer & J.G. Dodd, *Handbook of Vibrational Spectroscopy*, Vol. 3 (J. M. Chalmers and P. R. Griffiths, ed.), John Wiley, Chichester, p. 2173 (2002).
- 29) X. Liang, J.E. Andrews & J.A. de Haseth, *Anal. Chem.*, **68**, 378 (1996).