

九州大学中央分析センター

センター
ニュース

23

昭和63年12月

目 次

| | |
|--------------------------|----|
| 分析機器解説シリーズ(23) | 1 |
| 分析化学におけるレーザーの利用 | |
| トピックス | 8 |
| 水面単分子膜の分光学的研究 | |
| お知らせ | 12 |
| 登録装置について | |

分析機器解説シリーズ(23)
分析化学におけるレーザーの利用

工学部 今 坂 藤太郎

1. はじめに

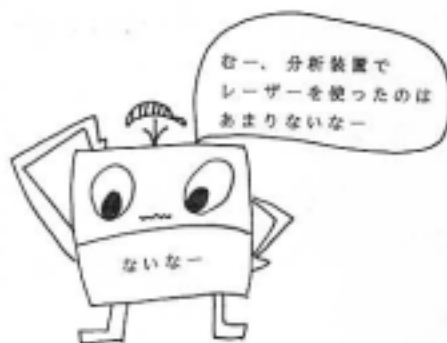
レーザーは最近光ディスクや光通信など、幅広い分野に応用されている。またレーザーショーなど芸術表現、あるいは写真製版や光リソグラフィーなど産業界においても今やなくてはならない存在である。レーザーは輝度、単色性、可干渉性などに優れ、今後さらに多方面への利用が考えられている。分析化学の分野においても、レーザーの利用はもう常識であり、多数の研究論文も発表されている。

しかしながら、さて市販の分析機器をと思い見渡してみると、以外にもレーザーを用いる分析装置は少ない。おそらくレーザー散乱計、あるいはレーザー脱離質量分析装置程度ではないだろうか。本稿では、レーザーの特徴を生かしたどのような分析法が研究されているか、そしてそれが実用機器として市販されていない理由は何か、さらにレーザーを用いる機器分析法は将来どのように展開すべきかなど、私見をまじえながら述べさせていただきたい。

2. レーザーの特徴を生かした種々の分析法

2.1 輝 度

最も典型的なレーザーとして、出力1Wのアルゴンレーザーについて考えてみよう。分光分析によく用いられるキセノンランプは100W程度の出力をもち、単純に値だけで比較するとランプの出力の方がはるかに大きい。しかしながらレーザーの場合、すべての光を効率よく集光して利用できるので、単位面積、時間、立体角、エネルギー幅等で比較すると、 10^{10-30} 倍大きな輝度を有している。



分析化学においてこのような輝度の高い光は、まず高感度分析のための励起光源としての利用が考えられる。既にそのような研究論文はかなり報告されている。たとえば真空中に存在する単一原子の検出も達成されており、溶液中の有機化合物でも $ag(10^{-18} \text{ g})$ レベルで検出が行える。しかしながら実際の分析条件においては、さらに選択性の改善や目的成分の性質に関する詳細な知見を与える分析法を研究、実現する必要がある。このためレーザーのもつ特徴を的確に捉えた新分析法の開発が要求されている。

2.2 集光性

アルゴンレーザー光は、平行光線なのでレンズで絞ると一点に集光できる。実際には光が波動の性質をもつため無限小には集光できず、光の波長（サブミクロン）の程度が限度である。レーザーはこの様に優れた集光性をもっているため、この特性を生かした種々の分光分析法が考案されている。

レーザーを試料中に集光したとき、光吸収によってわずかな温度上昇、すなわち屈折率の変化が起こる。これを利用する熱レンズ吸光分析法は、測定条件にもよるが従来の吸光法より 1000 倍以上高

感度な分析が行える。また微小検出器が要求される液体クロマトグラフ蛍光検出器では、 $1fg(10^{-15}g)$ の試料がクロマト分離後検出できることも知られている。またレーザー光を集光した時に生じるブレイクダウンを利用した発光分析法、さらに固体表面にレーザーを集光して多光子イオン化させた後質量分析するレーザー脱離質量分析法など、レーザーならではの集光性を生かした分析法が開発されている。



2.3 方向安定性

レーザー光は平行であるだけでなく、光軸方向の安定性についても優れている。通常のランプ光源では発光部位置のチラツキのため、光の進む方向に変動が生じるが、レーザーの場合これがほとんどない。トンネルの直進性をみるのにレーザーが用いられているのをご存じの方もあろう。分析化学において、細管中に屈折率が異なる試料が流れて来ると、中を通過するレーザー光の光路がわずかに変化するので、この効果を用いる屈折率検出器も開発されている。

2.4 短パルス特性

レーザーは、モードロック並びにパルス圧縮技術を用いて約 $1fs(10^{-15} \text{ 秒})$ の幅の光パルスを発生することができる。このような極短パルスを利用すれば、過渡的な応用を測定することによって、物質の励起、緩和などダイナミックな過程を調べることができる。蛍光分析に話を限ると、分子の励起寿命は分子種特有の値なので、これをもとに試料分子の同定を行ったり、あるいは分析条件を選ぶこ

とによって特定の分子種だけを選択的に検出することが可能になる。このような分析法を時間分解蛍光法と呼んでいる。身近な例を1つだけ紹介しよう。私達の体の中にある微量のタンパク質は病気や体調に大きな影響を与える。たとえばインシュリンは糖尿病と密接に関係していることが知られている。しかし血中にはppb程度しか含まれておらず、高感度な分析法が要求される。このようなタンパク質を分析する際、特異的な抗原抗体反応によりタンパク質を標識するが、ユーロピウムを用いてタンパク質を発蛍光種として時間分解蛍光法で検出する方法は、ラジオイムノアッセイに匹敵する感度をもつことが知られている。

2.5 単色性

通常の吸光、蛍光分析装置では、白色光源であるタングステンランプやキセノンランプの光を分光して用いる。そのスペクトル幅は10nm程度である。より単色にするには、分光器のスリット幅を狭くすればよいが、光量はその幅の2乗で減少するため、実用的には1nm程度が限界である。これに対してレーザーは極めて単色で、0.01nm程度のスペクトル幅のレーザーが通常用いられている。特殊なものでは、さらに100万倍以上単色なレーザーも開発されている。このため単色な光源が必要とされる光分析法では、レーザーが極めて有利である。

原子、イオンの蛍光分析にレーザーを用いる試みは以前から報告され、通常の原子吸光分析法より1~3桁高感度な分析が行えることが知られている。有機化合物の場合、常温で測定を行うとスペクトル幅が広く、単色なレーザーを用いてもメリットはない。しかし試料分子を絶対零度近くまで冷却すると、分子の振動準位に起因する微細な構造のスペクトルが観測され、単色なレーザーの特徴が遺憾なく発揮される。固体状態で冷却して分析する方法としては、シュポルスキー法やマトリクスアイソレーション法が知られている。一方気体試料をピンホールから真空中に噴出させて冷却する超音速分子ジェット法は、気相孤立状態で分析できるため、精度のよい分析が行える。この方法については後で少し述べる。

2.6 可干渉性

光は波動の性質をもっており、位相差が一定であれば、干渉作用が観測される。たとえば接近した



所にピンホールを2個あけ、これに点光源の光を照射すると、干渉縞が生じる。レーザーはコヒーレンスがよく、光の波が規則正しく継続して発生するため、上述のように2つの光の光格差をほとんど零としなくてもきれいな干渉縞が見られる。したがって測定が容易である。このような干渉作用は、光学的な光路長の変化を敏感にキャッチするのに用いられる。たとえば強力なレーザーを試料に照射すると、光吸収に伴う

温度上昇のため屈折率が変化する。したがって試料の光学光路長にわずかな変異が生じる。干渉させるために分離した2本のビームのうち片方に試料を通しておくと、重ね合わせたとき干渉縞の位置が変化する。これによって光吸収の程度、すなわち試料濃度を求めることができる。また片方を光ファイバーに通しておき、これに加わる温度、圧力等を測定することも可能である。

2.7 高効率

レーザーの発生効率は、通常の光源と比較して一般に低いと考えられてきた。ほとんどのレーザーについては、今でもこれは正しい。たとえばアルゴンレーザーや典型的なパルスレーザーである窒素レーザーは、電力から光出力への変換効率が0.1%程度である。変換効率がよいといわれているエキシマーレーザーでも数%にすぎない。しかしながら光ディスク等に使用されている半導体レーザーは、通常10%以上、中には100%近くの変換効率をもつレーザーも開発されている。このためヤグレーザーのポンピング用光源としても利用されている。この半導体レーザーの分析化学への応用については後で少し述べる。

3. レーザーを用いる分光分析法の実用化について

分析化学の雑誌には、レーザーを用いる分析法が毎号いくつも報告されているが、それらがルーチン用の分析機器として市販されている例は極めて少ない。これはレーザーの価格、操作性、メンテナンス等に問題があるためである。先にも述べたように、レーザー蛍光検出液体クロマトグラフィーでは1fgの試料の分析も可能で、従来装置より2~3桁高感度であるにもかかわらず市販装置がないのは、以下の理由によると考えられる。

- (1) レーザーが従来のキセノンランプより10~100倍高価である。
- (2) 電気や冷却水などのランニングコストが高い。
- (3) 信頼性に欠けるため、1年間無故障の保障が出来ない。
- (4) レーザーの波長を自由に変えられない。

実用化に際しては、とくに(3)の因子が重要であるが、これを満たすレーザーとしては、HeNeレーザーと小型ヤグレーザーぐらいであろう。BeNeレーザーを使用するレーザー散乱計やヤグレーザーの第4高調波を用いるレーザー脱離質量分析装置が市販されているのもうなずけるところである。このような問題点を解決するため、筆者は2つのアプローチを今後検討すべきであると考えている。



第一は安価で小型、かつ長寿命、高効率のレーザーを用いる分析法である。すなわち半導体レーザーを利

用する分析法が考えられる。発振波長が近赤外域（670～1600nm）に限られる難点はあるが、現在実用的な分析用光源として利用できる唯一のレーザーであろう。発振波長があまり変化できないので、スペクトル選択性に問題があるが、これについては抗原抗体反応など生化学的な特異性、あるいはクロマトグラフなどの物理的な分離手段、さらには選択的な化学反応などにより標識操作を行うなどの手法を用いて、高度の選択性をもたせることも可能と考えている。

第二のアプローチは、従来の光源では達成できなかった新しい分析法を開発することであろう。もしその分析法が試料の同定、構造解析に貴重な知見を与えるのであれば、多少価格やランニングコストが高くても、十分利用されるに違いない。一例として超音速分子ジェット分光分析法について述べよう。この分析法においては、単色で高輝度の光源が要求されるが、レーザー以外でこれを実現するのは困難である。この分析法は、得られるピークの幅が0.03nm程度と極めて狭く、データベースさえ完備されていれば、1本の信号ピーク的位置から瞬時に精度の高い同定が行える。またデータベースがなくても、得られるスペクトルから試料分子の化学構造がある程度予測できる。未知有機化合物の分析にはガスクロマトグラフ質量分析法がよく用いられるが、試料分子のイオン化の部分に超音速分子ジェット多光子イオン化法を用いれば、特定分子種のみをイオン化することができる。したがって極めて選択性の高い分析が行える。このような高機能レーザー分光分析法ははまだ未成熟の分野であるが、今後の分析化学における重要な研究課題であると考えている。

4. おわりに

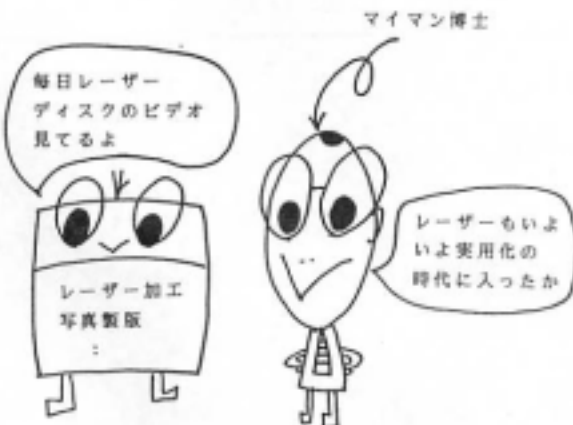
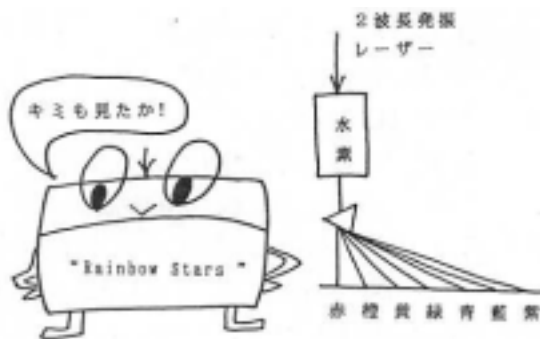
レーザーのもつ問題点を最後にもう1つ指摘し、また我々の研究の一部も少しPRして、本稿の終りとしたい。

光音響分析法では高輝度の光源が必要であるためレーザーがしばしば用いられ、吸光度に換算して 10^{-6} まで検出されるなど、その高感度特性が遺憾なく発揮されている。しかしながら実的に用いられている装置はやはりキセノンランプを光源とするものである。これは価格やランニングコストというより、むしろ波長可変性に問題があると考えられる。すなわち溶液中や固体吸着状態における有機化合物は、吸収スペクトルのバンド幅が30～50nmと広く、スペクトルを測定するためには100～200nmにわたって波長を走査する必要がある。これに対して現在波長可変レーザーとしてよく用いられている色素レーザーは、その波長可変範囲が1つの色素について20～40nmしかない。このため1つのスペクトルを測定するには、5～10鐘のレーザー色素を交換して用いる必要がある。フローセル方式のレーザー色素溶液の交換には1時間を要するので、この方式は現実的ではない。また340nmより紫外の光を出すためには光線形光学結晶を用いる必要があるが、これも結晶軸をレーザー波長に同期させて回転しなければならず、その利用は一筋縄ではいかない。また近赤外の色素は劣化が激しく、1時間程度しかもたないのも頭痛のタネである。

これらの諸問題を克服するため、波長を自由に変えられるレーザーの研究が進められている。第一

は自由電子レーザーである。電子を波打たせた時に生じる放射光を光増幅に用いる方法で、原理的には発生できるレーザー光の波長に制限がない。しかし現実的には使用波長域により装置のデザインが異なり、また装置（施設）も巨大となるため、分光分析用の光源としては馴染まない。第二は光パラメトリック発振を用いる方法である。最近中国において開発された $\text{-BaB}_2\text{O}_4$ 結晶は非線形定数が大きく、また光損傷値も高いため、この方面での利用が注目されている。実際に $410\text{nm} \sim 2.6\ \mu\text{m}$ の広い波長可変域が得られている。しかし 400nm 以下の紫外光を発生させるためには、やはり非線形光学結晶を同期回転して用いる必要がある。また結晶は真空紫外光を通さないので、 200nm 以下の波長へは変換できないのも難点である。

もう一つの試みとして誘導ラマン効果による波長変換法が考えられる。たとえば波長可変色素レーザー光をラマン媒体の水素（またはメタン等）を通すことにより、 4155cm^{-1} （メタンは 2917cm^{-1} ）の整数倍だけ周波数シフトさせる方法である。この方法は誘導ラマン効果が効率よく起こる紫外域において、シフト周波数より広い領域で十分な強度をもつ色素レーザーが見出されておらず、現在のところ紫外から可視域を1つのレーザー色素で発生させる試みには成功していない。しかしながら我々が最近偶然見出した二波長誘導ラマン効果を用いる方法は、効率よく 40 本以上の振動（ 4155cm^{-1} ）及び回転（ 587cm^{-1} ）準位に基づくラマン光が発生できるので、単一レーザー物質（色素）を用いて、真空紫外から赤外まで一挙に発生できる可能性があり、現在研究を進めている。なお余談であるが、このレーザー光はプリズムで分光すると七色のレーザースポットが星の様に輝いて見えるため、“Rainbow Stars”と名付けている。



このところ紫外から可視域を1つのレーザー色素で発生させる試みには成功していない。しかしながら我々が最近偶然見出した二波長誘導ラマン効果を用いる方法は、効率よく 40 本以上の振動（ 4155cm^{-1} ）及び回転（ 587cm^{-1} ）準位に基づくラマン光が発生できるので、単一レーザー物質（色素）を用いて、真空紫外から赤外まで一挙に発生できる可能性があり、現在研究を進めている。なお余談であるが、このレーザー光はプリズムで分光すると七色のレーザースポットが星の様に輝いて見えるため、“Rainbow Stars”と名付けている。

レーザー技術は、正に日進月歩の時代である。簡単な装置で自由に波長を変えられるレーザーの出現も間近と予測される。この様なレーザーが分析化学において手軽に利用できれば、その分析法の実用性は飛躍的に高まるに違

いない。レーザーは1960年Maimanによって公表されて約30年経た現在、ようやく産業など多方面で利用されるようになってきた。そのレーザーを用いる分析装置が市販されていないのは、ある意味で当然と考えるべきかもしれない。

表1 量子エレクトロニクスにおけるレーザ開発の歴史

| | | |
|-------|-------------------------|--------------------------------|
| 1954年 | アンモニヤメーザ | J. P. Gordon et al . |
| 1960年 | ルビーレーザ | T. H. Maiman |
| | 四準位同体レーザ | P. P. Sorokin, M. J. Stevenson |
| 1961年 | HeNeレーザ | A. Javan et al . |
| | Qスイッチ法 | F. J. McClung, R. W. Hellwarth |
| | 第二高調波発生 | P. A. Franken et al . |
| 1962年 | ガラスレーザ | E. Snitzer |
| | 半導体レーザ | M. Nathan et al . |
| | ラマンレーザ | E. J. Woodburg et al . |
| 1963年 | N ₂ 紫外レーザ | H. G. Heard |
| 1964年 | Arイオンレーザ | W. B. Bridges |
| | CO ₂ レーザ | C. K. N. Patel |
| | モード同期法 | L. E. Hargrove et al . |
| 1965年 | 化学レーザ | J. V. Kasper, G. C. Pimentel |
| | 光パラメトリック発振 | J. A. Giordmain, R. C. Miller |
| 1966年 | 色素レーザ | P. P. Sorokin, J. R. Lankard |
| 1970年 | Xe ₂ エキシマレーザ | N. G. Basov et al . |
| 1975年 | 希ガスハライドレーザ | S. K. Searles, G. A. Hart |
| 1976年 | 自由電子レーザ | L. R. Elias et al . |
| 1984年 | 軟線レーザ | M. D. Rosen et al . |

前田三男著「量子エレクトロニクス」より引用

単分子膜、およびそれを基板上に移しとったLB膜は分子的厚みを有した超薄膜として注目されており、新しい技術開発を目指した基礎、応用研究が展開されている。またその一方で膜中における分子構造、配向のキャラクタリゼーションの重要性がはやく認識されてきた。¹⁾ 薄膜のキャラクタリゼーション法としては従来からの 線および電子線回折法とならんで紫外・可視分光法・FT-IR法、ラマン分光法等の分光学的評価法が多く用いられており、また近年 線光電子分光法、ペニングイオン化電子分光法等の利用も報告されている。これらのうら水面上の単分子膜状態の評価に分光学的手法が果たす役割は大きく、単分子膜の分子配向、分子間距離、分子間相互作用について重要な知見を得ることができる。本稿では水面単分子膜の反射吸収スペクトル測定によるキャラクタリゼーション法について紹介する。

従来単分子膜の可視・紫外吸収スペクトルは石英等の基板に移しとったLB膜について透過測定が行なわれてきたが、この手法では単分子膜と基板の相互作用のために水面上の状態をそのまま再現し得ない可能性もあった。そこで2枚の鏡を水面の上下に配置し多重反射を利用して吸収スペクトルを測定する方法²⁾が考案されたが、透過法ゆえの限界(サブフェーズに吸収のある物質を溶解できない、鏡のコンタミネーション、劣化等の問題)がある。近年反射スペクトル法をもちいて水面単分子膜を

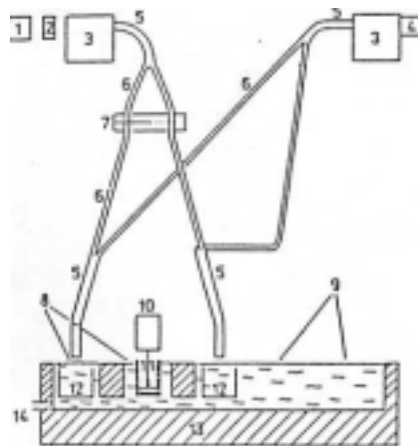


図1. 反射スペクトル測定装置³⁾

- (1)キノセンランプ (2)水フィルター (3)モノクロメータ
- (4)フォトマル (5)(6)光ファイバー (7)チョッパー
- (8)リファレンス水面 (9)単分子膜 (10)表面圧計

直接調べることが可能となり、単分子膜中の分子配向や界面下に存在する物質の単分子膜への吸着過程を調べられるようになった。

図1はMobiusらの測光システム³⁾である。モノクロメーター(3)からの入射光はチョッパー(7)をとおして単分子膜で覆われた水面(9)とリファレンスとなる純水表面(8)に光ファイバーで送られる。それぞれの反射光は検出部側のモノクロメーター(3)をとおしてフォトマル(4)に送られている。二つのモノクロメーターはステッピングモーターで同時に作動し、マイコンで制御されている。

アニオン性ポルフィリン色素(B)水溶液 ($2 \times 10^{-7} \text{M}$) 上にエイコシルアミン ($\text{C}_{20}\text{H}_{41}\text{NH}_2$) とアラキジン酸メチルからなる混合単分子膜を展開したとさの反射スペクトルにおいては明瞭にポルフィリンのソーレー帯が観測された(図2a)。一方アニオン性のアラキジン酸 ($\text{C}_{20}\text{H}_{41}\text{COOH}$) 単分子膜を展開した場合には、ポルフィリン濃度を5000倍に上げててもポルフィリンのスペクトルは検出できなかった(図2b)。このことはカチオン性単分子膜へ色素Bが静電的に吸着していること(図3)を示している。Mobiusらはさらに投光と受光側の光ファイバーを分離し、投光側に偏光子をとりつけて偏光スペクトル測定をも可能にした⁴⁾。

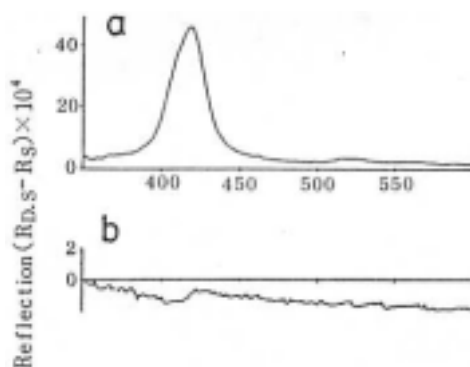


図2. 単分子膜に吸着した色素Bの反射スペクトル³⁾

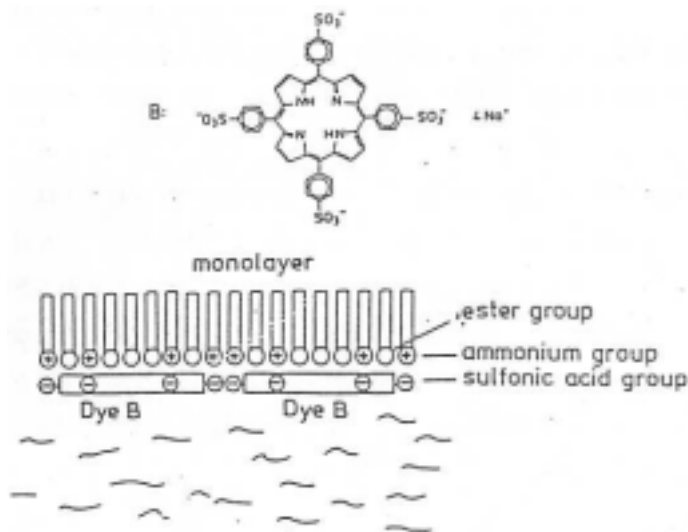


図3. 混合単分子膜（エイコシルアミン：アラキドン酸メチル = 1 : 4）への色素Bの吸着³⁾

モノクロメーターで波長走査する図1のシステムでは図2のスペクトルを得るのに約10分間要すると記述されている。一方、近年検出部に光センサーフォトダイオードアレーを採用した市販の瞬間マルチ測光システムを用いても簡単に反射スペクトル測定が可能となり、測定時間を大幅に短縮できるようになった。図4はアゾベンゼン脂質単分子膜の圧縮に伴う反射スペクトル変化⁵⁾（分子配向変化）であるが、1個のスペクトル測定の所用時間はわずか1~2秒である。

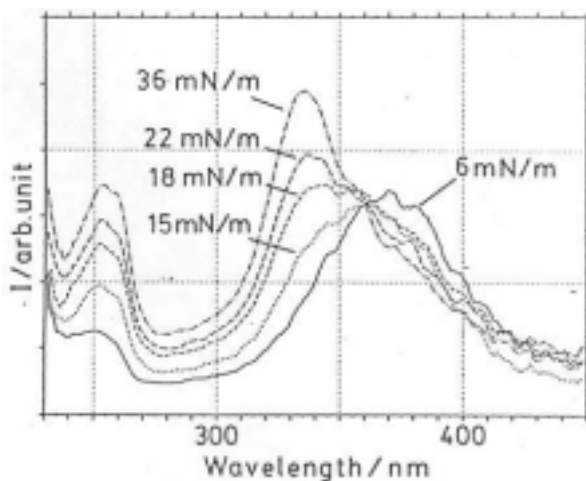


図4. アゾベンゼン単分子膜の圧縮にともなう反射スペクトル変化⁵⁾

図1のような特別なラングミュアトラフを必要としないこと、また測定時間が短いために圧縮過程の分子配向変化を追跡可能なことが大きな利点である。また、最近ではイメージインテンシファイヤ装着により一層の高感度化がなされており、単分子膜の蛍光スペクトルも比較的簡単に測定できるようになってきた⁶⁾。

このように水面単分子膜のスペクトルが簡便に測定できるようになったことは、膜のキャラクタリゼーションの充実はもとより、それ以外の貢献も大きいものと考えられる。例えば気液単分子膜における化学反応、酵素反応の解析はもっぱら反応に伴う表面圧、表面積の変化から評価されてきたため、膜分子の光異性化やリパーゼによるリン脂質の分解反応等、比較的膜状態の大きな変化を伴う系に限られてきた。しかしこの反射スペクトル法を併用すれば従来にはないバラエティにとむ反応過程を追跡できるようになるであろう。単分子膜系を利用した新しい研究領域の展開は今後の興味あるトピックスとなりそうである。

文 献

1. 梅村純三, 表面, 26, 180 (1988)
2. A.G.Tweet, Rev. Sci. Instruments., 34, 1412 (1963)
3. H.Gruniger, D.Mobius, H.Meyer, J. Chem. Phys., 79, 3701 (1983)
4. M.Orrit, D・Mobius, U.Lehmann, H.Meyer., J. Chem. Phys., 85, 4966 (1986)
5. N.Kimizuka, T.Kunitake, Chem. Lett., 827 (1988)
6. 君塚, 塚本, 国武, 光化学討論会要旨集, 285 (1988)

*** お 知 ら せ ***

登録装置について（工学分室）

下記の装置について変更しましたのでお知らせ致します。

設置場所の移動

プラズマデポジション装置

（旧）118 室 （新）120A 室

所属変更

レーザーラマン分光光度計

型 式：日本分光製 R - 500 型

管 理 講 座：（旧）工学部合成化学科第五講座

（新）工学部合成化学科第一講座

設 置 場 所：中央分析センター工学分室 115 号室

装 置 責 任 者：助教授 中 村 博

担当ホ^ルレーター ：助 手 臼 井 聡

利 用 料 金：従来通り

A：1,500 円 / 件

B：1,000 円 / 時間

登録取消

核磁気共鳴吸収装置

型 式：Bruker 社製 WH - 90

管 理 講 座：工学部合成化学科第一講座