



目 次

分析機器解説シリーズ(50)	1
レーザーラマン分光法	
トピックス	6
魚類蓄積元素濃度から環境水元素濃度の推定	
お知らせ	12

1 原理

物質に振動数 ν_0 の光を照射すると、光の電磁場の影響を受けて電子が振動し、入射光と同じ振動数をもつ光が放出される。これがレイリー (Rayleigh) 散乱である。しかし原子核が振動数 ν_i で振動していると、 ν_0 とは異なる振動数 $\nu_0 - \nu_i$, $\nu_0 + \nu_i$ の光も散乱される。これが(振動)ラマン (Raman) 散乱光であり、最も広く研究され応用範囲の広い散乱現象である。すなわちラマン散乱は入射する光子 (エネルギー: $h\nu_0$) と物質との非弾性散乱であり、 $h\nu_i$ のエネルギーが入射光子と物質との間でやりとりされることになる。 $h\nu_i$ のエネルギーが入射光子から物質に与えられる場合がストークス (Stokes) 散乱(振動数: $\nu_0 - \nu_i$) であり、逆に $h\nu_i$ のエネルギーが物質から入射光子に与えられる場合が反ストークス (anti-Stokes) 散乱 (振動数: $\nu_0 + \nu_i$) である。

分子における振動ラマン散乱の機構を図1に示す。 ν_0 , ν_1 を電子基底状態 (GS) における2つの振動準位、ESをGSから $h\nu_0$ に等しいエネルギーだけ高い擬励起状態とすると、a, b, cの遷移がそれぞれレイリー散乱、ストークス散乱、反ストークス散乱に対応する。ラマン散乱光強度は入

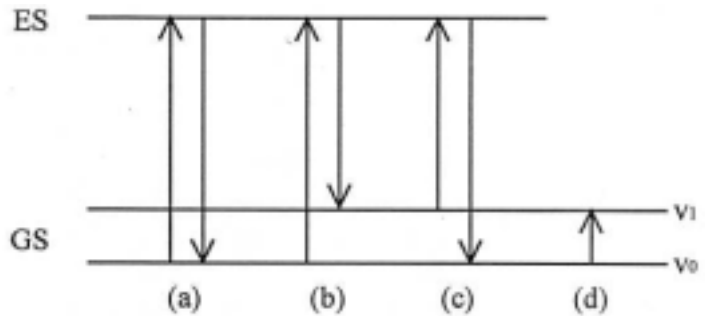


図1 ラマン散乱の機構：(a) レイリー散乱、(b) ストークス散乱、(c) 反ストークス散乱、(d) 振動遷移

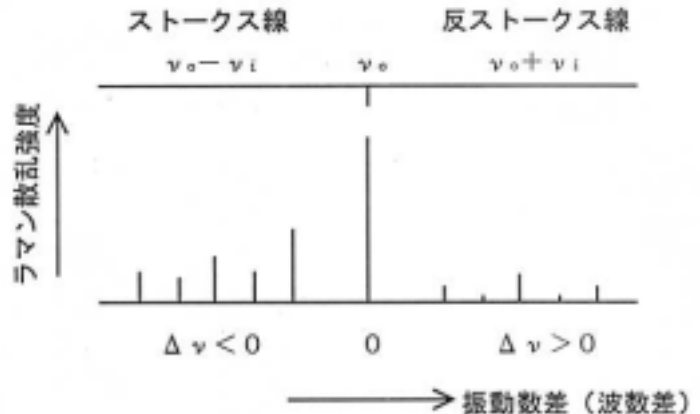


図2 ラマンスペクトルの概念図
 $\Delta\nu$ は励起光 (ν_0) とラマン散乱光 (ν_i) との振動数差。
 $\Delta\nu < 0$ の領域をストークス線、 $\Delta\nu > 0$ の領域を反ストークス線と呼ぶ。

射（励起）光強度に比べて極めて弱い（ $\sim 10^{-7}$ 以下）ので、ラマン散乱光を充分な感度で観測するためには強力な励起光源が必要となる。励起光とラマン散乱光の振動数の差は分子の振動エネルギー準位の差に対応しているため、 $h\nu_0$ を掃引し、 ν_0 における散乱光を観測することによって分子の振動エネルギー状態の間隔を観測できる。これがラマンスペクトルである（図2）。

ボルツマン分布則により、図1において低エネルギー状態（ ν_0 ）にある分子の数は高エネルギー状態（ ν_1 ）にある分子の数より多いので、通常はストークス散乱光の方が反ストークス散乱光より強い。このため、通常のラマンスペクトルは励起光より低い振動数（低波数）領域にかけて測定が行われる。

赤外分光法（図1の(d)に対応）に比べてラマン分光法のすぐれている主な点を次にあげる。

- (1) 励起光の振動数と散乱光の振動数との差を観測するので、光源として任意の波長の光を選ぶことができる。従って光学的に使い易い紫外～可視光を用いることができる。
- (2) 10cm^{-1} 程度の低波数域までの測定が容易にできる。
- (3) 水溶液系での測定が行える。

2 測定法¹⁻³⁾

ラマン散乱光は極めて弱いので、ラマンスペクトルを得るためには強力な励起光を必要とする。レーザー光の出現により、ラマン分光法の研究は飛躍的に発展した。現在ではレーザーラマン分光（光度）計が市販され、普及しつつある。

ラマンスペクトル測定装置の構成図を図3に示すが、大きく励起光源、試料室、検出部に分けられる。

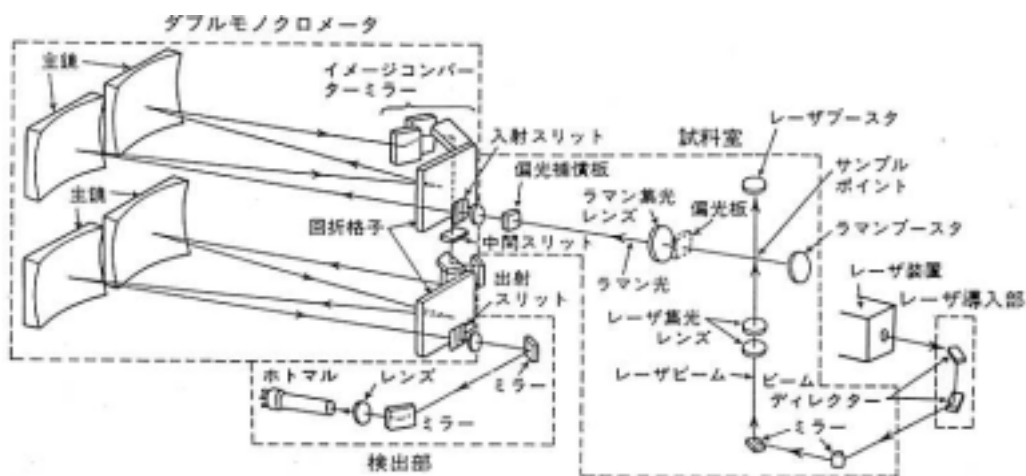


図3 レーザーラマン分光光度計の構成図 (Joel 400D)

表1 主なラマン測定用レーザーと波長

レーザー	波長 / nm
Ar イオンレーザー	514.5 ~ 457.9
Kr イオンレーザー	647.1 ~ 476.2
He - Cd レーザー	441.6 , 325.0
He - Ne レーザー	632.8
Nd : YAG レーザー	1064 , 532 , 355 , 266

2.1 光源

散乱光の強度は励起光の波長の4乗に逆比例するので、短波長の光を用いた方が有利である。レーザーは高輝度かつ集光性にすぐれているので、ラマン分光用光源として最適である。最もよく用いられているのは

Ar イオンレーザーであるが、目的に応じていくつかのレーザーが使い分けられている。比較的好く用いられるレーザーを表1にまとめる。

2.2 試料

試料は特に制限はない。液体の場合には通常のセルやキャピラリーを用いてよい。溶媒は特に制限はないが、試料のラマン線の近くにラマン線を示さないものがよい。特に水溶液試料の測定ができるというのが本法の強みである。粉末はガラス上にのせるか、キャピラリー中につめればよい。気体の場合には気体用ラマンセルを用いる。

2.3 検出部

励起波長が決まると、その波長域に適した分光器と検出器を用意する必要がある。ラマン光は微弱であるために、励起光の散乱光や迷光を効率よく除去しなければならない。そのためにダブルモノクロメーターやトリプルモノクロメーターがよく用いられる。光検出器は、Ar イオンレーザー等を用いた場合には紫外～可視域の光電子増倍管がよく用いられるが、イメージンテンシファイヤや CCD 検出器も利用できる。

3 測定例

3.1 赤外吸収法との比較¹⁾

ラマン分光法による定性分析の方法は赤外分光法の場合と同様である。ベンゼンの場合を図4に示すが、対称中心をもつ分子では、対称中心に対して対称な振動はラマンスペクトルにあらわれ、反対称な振動は赤外スペクトルにあらわれる。

3.2 共鳴ラマン効果⁴⁾

ある分子の吸収帯と重なる波長を用いてラマンスペクトルを測定した場合、吸収帯の原因となる発色基の振動に由来するラマン線の強度が著しく増大する効果である。この場合励起光のエネルギーは電子遷移のエネルギーにほぼ等しくなるので、図1のES状態は電子励起状態と考えることができ、吸収強度は増大する。ラマン散乱強度は吸収強度の2乗に比例するので、その結果ラマン散乱光強度が増大する。

一例として、pH2.8の水面上で形成されたセチルオレンジ単分子膜の共鳴ラマンスペクトルを図5に示す。表面圧が0から17mN/mに増大するにつれて、アゾ型構造による 1400cm^{-1} 付近の4本のピーク(*印で示す)がその両側のキノイド型構造によるピークに比べて相対的に強くなる。このことから、膜の圧縮に伴って平衡がアゾ側に移動することを明らかにしている。

3.3 表面増感ラマン効果⁵⁾

銀電極表面に吸着したピリジンのラマン強度が溶液系の場合に比べて著しく増強される現象が見い出されて以来、金や銅の表面でも同様の現象が観測されるようになった。極微量の吸着分子のキャラクタリゼーションに適用できる振動分光法であり、表面増感ラマン分光法(Surface-Enhanced Raman Scattering Spectroscopy: SERS 分光法)と呼ばれている。SERS現象の理論については、電磁気学的、および化学的(金属-分子間相互作用)立場からの理論があるが、詳細

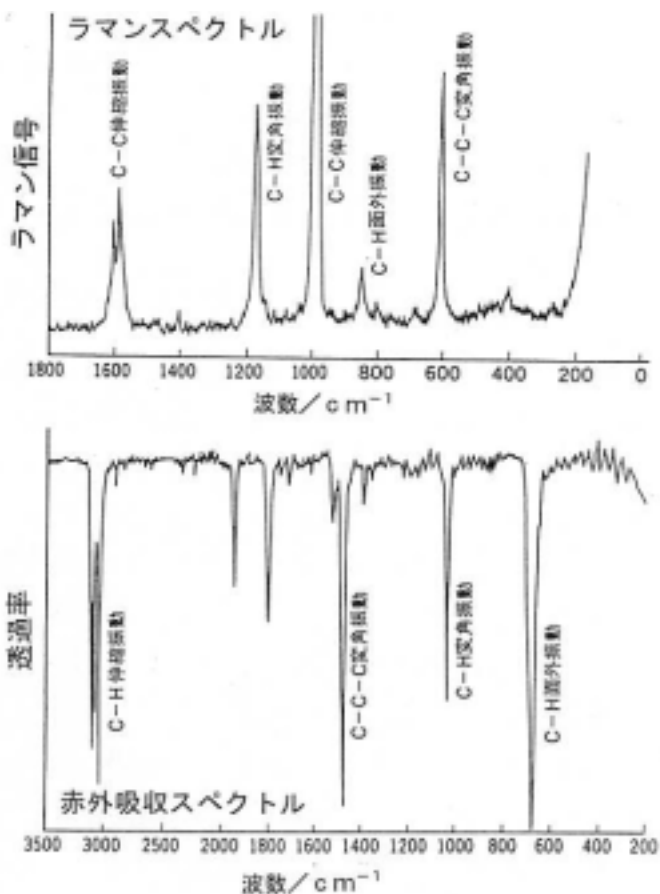


図4 ベンゼンのラマンスペクトルと赤外吸収スペクトル

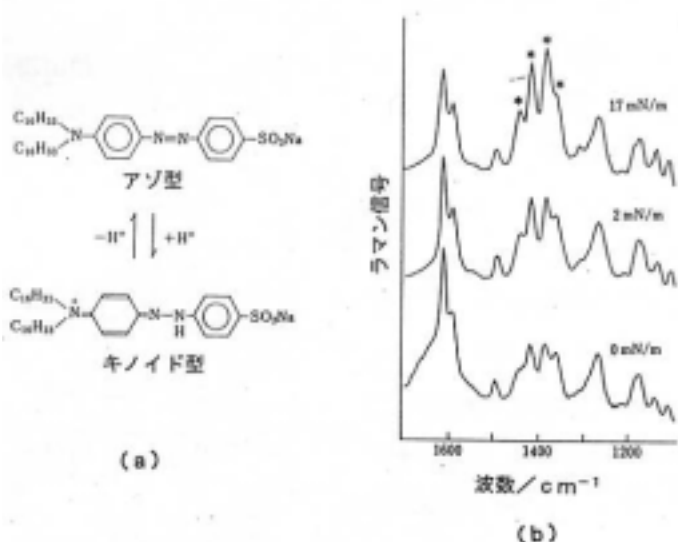


図5 セチルオレンジの構造(a)と単分子膜の共鳴ラマンスペクトル(b)

については割愛させていただき、ここでは応用例を一つ示すにとどめる。

Mn()のテトラフェニルポルフィリン(TPP)錯体 Mn()TPPCIの銀表面への吸着に伴う軸配位子の状態変化がSERS法で調べられている(図6)。アセトニトリル溶液中でこれらの錯体はCl⁻を第5配位子として保持しているのに対し、0Vの電位で銀表面に吸着した場合にはCl⁻を脱離して吸着することがSERSスペクトルの比較より明らかにされた。

4 フーリエ変換ラマン分光法²⁾

分光系にフーリエ変換に基づく干渉分光法を採用することにより、全波数領域の同時測光が可能になり分解能も向上することが原理的に可能となる。すでにFT-ラマン分光計として市販されている。

ポリエチレン板のラマンスペクトルを通常のラマン法とFT-ラマン法で比較した結果を図7に示す。明らかにFT-ラマン法で高いS/N比が達成されている。

励起光としてはNd:YAGレーザーの基本波(1064nm)が用いられている。近赤外領域に強い蛍光を与える試料はまれであるので、蛍光の妨害が極めて少なくなるなどの長所がある。しかし、レイリー散乱光の除去が不十分であること、ラマン散乱強度が励起波長の4乗に逆比例するために近赤外光による励起ではラマン散乱光強度が弱くなること、検出器の感度が低いことなどの問題をかかえている。

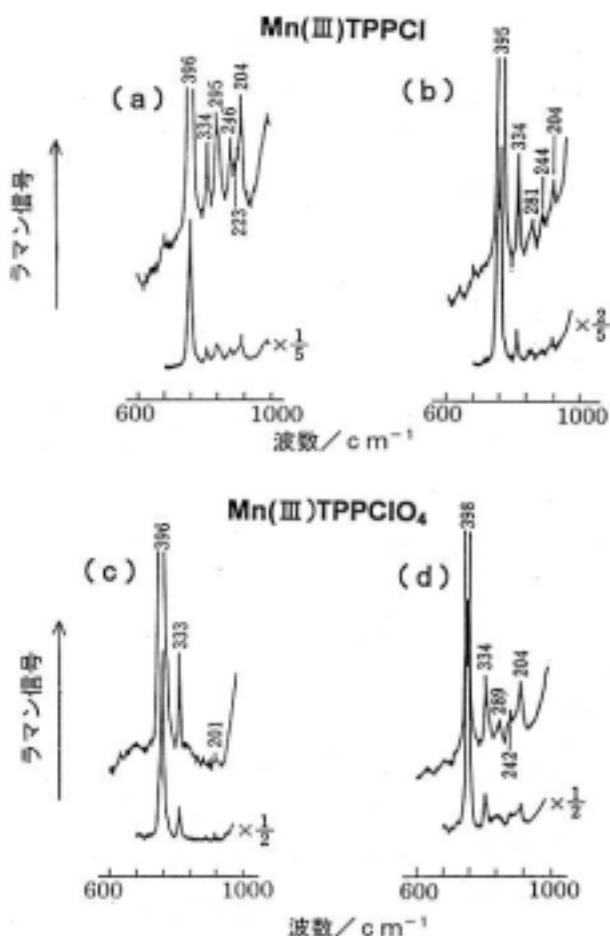


図6 Mn(III)TPPCI, Mn(III)TPPClO₄のラマンスペクトル (a), (b): アセトニトリル中; (b), (d): 銀電極表面でのSERSスペクトル (0V vs Ag/AgCl).

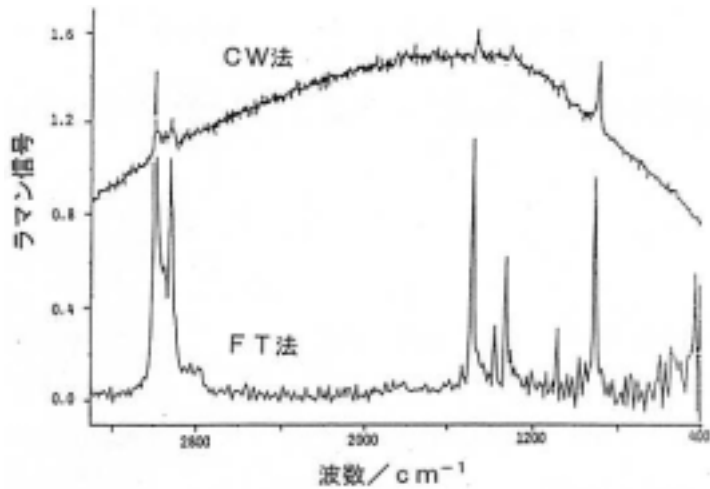


図7 表面が酸化劣化したポリエチレン板のラマンスペクトル。488nm励起が通常の連続光 (CW) 励起によるもの、1064nm励起がFT-ラマン法によるもの

5 おわりに

ラマン分光法はレーザーの出現により最も発展した分光技術の一つである。近年では非線形光学効果に基づくラマン分光法が続々と登場し新しい展開を迎えている。ラマン分光法が表面、界面、薄膜などのキャラクタリゼーションに幅広く活用されていくことは確実である。

参考文献

本稿の執筆にあたり以下の著者総説を参考にさせていただいた。

- 1) 日本化学会九州支部編「機器分析入門」(南江堂), 第3章, 1989.
- 2) 濱口宏夫ら編「レーザー分光計測の基礎と応用」(アイピーシー), 第6, 7章, 1992.
- 3) 足立幸男, ぶんせき, p.426 (1994).
- 4) 河合武司, ぶんせき, p.896 (1994).
- 5) 伊藤紘一, ぶんせき, p.577 (1993).

トピックス

魚類蓄積元素濃度から環境水元素濃度の推定

農学部 中 川 久 機

1. 水生生物による汚染物質や元素の濃縮・蓄積

水生生物が汚染物質や元素を濃縮・蓄積する経路として、1) 食物連鎖からの間接的な経路、2) 鰓や細胞上皮による水中からの直接的な経路、が考えられる。水生生物が低濃度で存在する物質を、1) や 2) の経路で高濃度に濃縮している例を紹介する。

有機水銀が原因とされる水俣病は高濃度に有機水銀を蓄積した魚介類を多く食べたヒトに発生した。水中の極小濃度の有機水銀を、2) の経路によって植物プランクトンが濃縮し、それらを食べた動物プランクトンがさらに濃縮し、これらのプランクトンを食した魚介類が高濃度になった結果である。

また、1988年4月、北海の東部で4000頭に及ぶアザラシの大量死が起こった。当時、その原因は不明であったが、その後大量死の直接原因は病原性のウイルスであることが突き止められた。しかし、ほとんどのアザラシの内臓からはCd、Pb、Hgなどの重金属類やPCBといった有害な化学物質が高濃度に150種類も発見されたそうである。海水中に極微小濃度で存在するPCBが、海洋生態系の食物連鎖を介して長寿命哺乳類のシャチに5億倍も濃縮（カネミ油症患者の濃度）された例もあるそうで、Fig.1に示したような食物連鎖を介して濃縮したものと考えられる。PCBなどの人工合成化学物質は生体にとって異物なので、生体は素早く排泄しようとする。それには薬物代謝酵素が関係し、これらの化学物質は薬物代謝酵素の合成を誘導し、大量に合成する。本来、この酵素は生体のホルモンバランスに関係している。大量に存在する薬物代謝酵素はホルモンバランスを崩す。その結果、生体に生殖機能低下、免疫機能低下が起こる。アザラシ大量死の直接原因は病原性のウイ

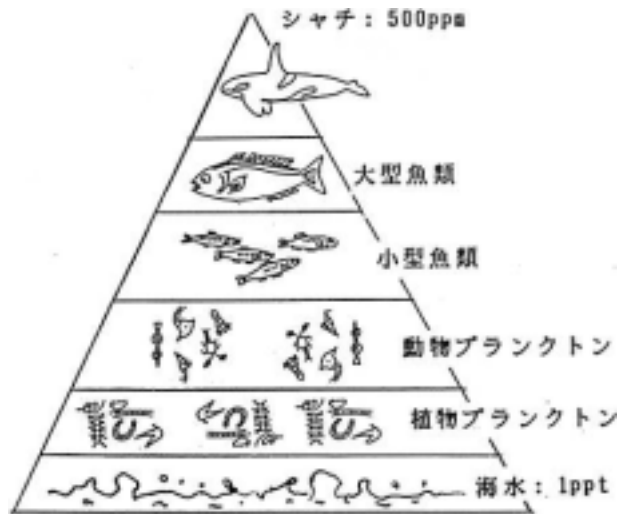


Fig. 1 海洋におけるPCBの生物濃縮

ルスといわれているが、その前に免疫機能の低下があったといわれる所以である。

ところで、わが国の公共用水域（沿岸域，河川，湖沼）には、達成し維持することが望ましい水質，すなわち環境基準が決められている。この環境基準は「人の健康の保護に関する環境基準」と「生活環境の保全に関する環境基準」から成っている。「人の健康の保護に関する環境基準」の9項目は、平成5年3月8日付で、18年ぶりに改定され、重金属類，塩素系溶剤，農薬等の23項目となり，Pb，Asについては基準値が強化された。また，直ちに環境基準とはせずに，知見の集積に努めるべきと判断された要監視項目が新たに設けられ，25項目が設定されている。

この環境基準値で公共水域の水生生態系が保護されるか疑わしい。Cdの環境基準値は10ppbである。魚類は水中のCdイオンを鰓を介して体内へ取り込むが，Cd慢性曝露試験からカワマス¹⁾やflagfish²⁾に対する最大許容濃度はそれぞれ1.7 - 3.4，4.1 - 8.1ppb，ウグイに対する亜急性試験³⁾から10ppbでは稚仔魚の成長を阻害し奇形や致死を招く，と報告されている。また，Pbの環境基準値は10ppbである。種々な水中Pbおよび水の硬度からなる試験水で，コイを20日間曝露試験した場合，水中Pb濃度と血中Pb濃度との関係をFig.2，水中Pb濃度と血中5-アミノレブリン酸脱水酵素（ALA-D）の活性阻害との関係をFig.3に示す⁴⁾。なお，魚類血液のALA-Dは，Pb汚染の指標酵素として有用なばかりでなく，Pbの慢性毒性を評価する有用な酵素である⁵⁾。水のPb濃度が10ppbでも血液中にはPbが濃縮し，血液中のALA-D活性を低下させる。この結果から，Pbの環境基準値10ppbは水質（わが国の河川水の平均的な水の硬度は30ppm（CaCO₃））によってはコイに慢性毒性を起こさせる濃度

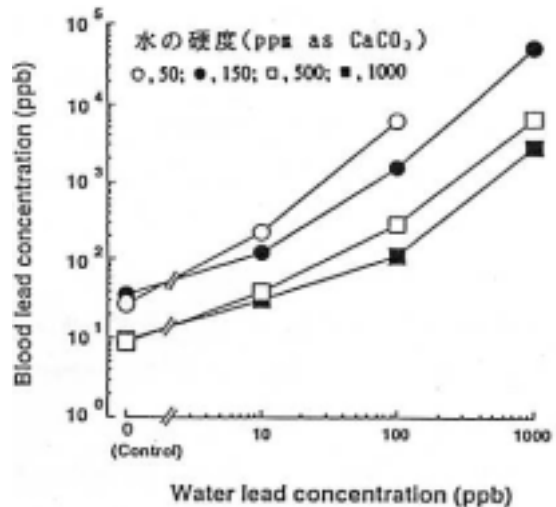


Fig. 2 水中Pb濃度と血中Pb濃度

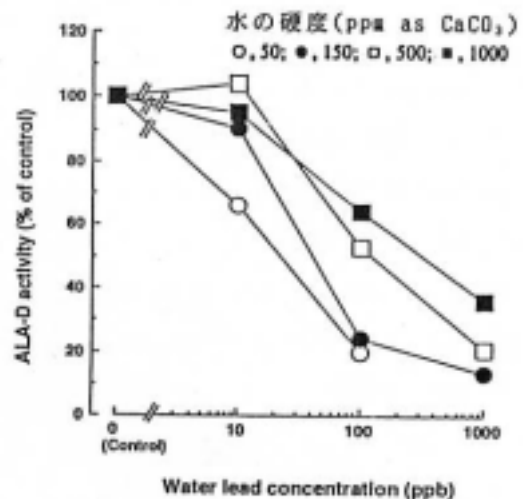


Fig. 3 水中Pb濃度と血中ALA-D活性

である可能性が示唆される。もちろん、水生生物は有害な化学物質や重金属類だけでなく、栄養学的に重要な元素も 1) や 2) の経路を介して体内に取り込み蓄積している。

以上、水生生物が食う食われるの食物連鎖や鰓や細胞上皮を介して、水中に低濃度で存在する物質を濃縮・蓄積している例を紹介した。

2. 魚類体内濃度から調査水域の元素濃度推定への ICP - MS 利用の可能性

上述したように、水生生物が蓄積する物質の種類や濃度は、生息する水域に存在する蓄積性物質の種類や濃度を良く反映することは明かである。それならば、水生生物に蓄積された物質の種類や濃度から生息水域がどのような有事物質で汚染されているか、またその汚染の実態を把握することが可能になる。水質は常に変化しているので、調査時点での水質から低濃度で存在する蓄積性物質の濃度の実態は把握できない。

このような考えから、超微量の多元素同時分析が感度よく行える誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP - MS) を利用することによって、魚類に蓄積された元素類を分析し、その濃度から調査水域の蓄積性の元素類濃度の実態把握が可能となる。ICP - MS による分析対象元素として主に排水基準の Fe, Cu, Zn や Mn, 環境基準の As, Cd, Pb や Cr, その他, Mo, Se, Co, Sn, Ag や V を考えている。供試魚としては、九州北部の佐賀県の松浦川, 福岡県の筑後川, 多々良川, 宇美川, 長谷ダムで容易に採捕できる魚種はギンブナであるため、これが利用できる。また、分析対象臓器は、蓄積性の有害元素類を高濃度に含有する肝すい臓・腎臓及び血液が考えられる。

以上魚類に蓄積された元素濃度から水域の元素濃度の実態を把握する方法について簡単に触れたが、今後の研究の進展を待ちたい。

- (1) Benoit, D.A., Leonard, E.N., Christensen, G.M. & Fiandt, J.T. Trans. Amer. Fish. Soc. 105, 550 (1976)
- (2) Spehar, R.L. J. Fish. Res. Bd. CAN. 33, 1939 (1976)
- (3) 中村 亮 日衛誌, 21, 321 (1974)
- (4) Nakagawa, H., Sato, T. & Kubo, H. Fisheries Sci. 61, 956 (1995)
- (5) Hodson, P.V., Blunt, B.R., Spry, D.J., & Austen, K. J. Fish. Res. Bd. CAN. 34. 501 (1977)

お 知 ら せ

*登録装置利用料金の変更

諸事情により，下記の装置の利用料金に変更になりました。
ご協力お願い致します。

・円二色分散計

型 式：(JASCO J - 720)

管 理 講 座：応用物質化学科機能有機化学講座

管 理 責 任 者：浜地 格

利 用 料 金：2000 円 / 時間

変更開始時期：平成 8 年 1 月 1 日