

差スペクトル測定法

—振動円偏光二色性分光への応用—

濱 田 嘉 昭¹⁾

Method to observe the difference spectrum

—Application to vibrational circular dichroism spectroscopy—

Yoshiaki HAMADA

要 旨

外部からの影響による分子の振動スペクトルの変化を検出することは、分子の外部環境への応答を知るだけでなく、分子スペクトルを通じて外界の状態を知る手段にも通じる。一般に差スペクトルは本来のスペクトル強度の4, 5桁も小さな変化であることが多く、通常の分光法に比べて特別な工夫が必要になる。本稿ではこの差スペクトルを検出する方法の原理を紹介し、特に振動円偏光二色性分光への応用とその実例を紹介する。

ABSTRACT

Observation of the spectral changes in the vibrational spectrum of molecule induced by the external impact gives us the information for the response of the molecule to the impact and in turn let us tell the external environment through the changes caused in the molecule. In general, the changes in the spectral intensities and spectral positions induced by the external impact are smaller by 4 or 5 orders of magnitudes against the unperturbed spectrum. Therefore, some special ingenuity should be exercised comparing to the usual spectroscopic method. In this article the author will illustrate the modern method in observing the vibrational difference spectrum, particularly an application to the vibrational circular dichroism spectroscopy with some real examples.

1. 差スペクトル

振動スペクトルは分子内の特性基に特有な伸縮・変角運動に起因する。そのスペクトル位置は直接的には局所な分子構造と化学結合の強さを反映するものであり、さらにスペクトル強度は振動に伴う極性や分極率の変化に関する情報を与える。これらのことから振動分光法は分子の構造や性質を調べる重要な物理化学的手段であると同時に、多くの経験的な知識に基づく定性・定量的分析手法にもなっている。特に、温度、圧力、光照射や電場・磁場など、分子系外部からの摂動(擾乱)による振動スペクトルの強度や位置の変化は、振動モードや分子の局所あるいは全体的な構造および電子的性質の変化を反映するものであり、分子に関するより詳細な情報源となりうる。この外部からの摂動

は、スペクトルの差、すなわち差スペクトルとして観測される。この差スペクトルを信頼性高く測定できることが現代の分光学の能力を測る指標にもなっている。

本稿では、この振動分光法における差スペクトル測定法の原理と、振動円偏光二色性分光への応用について解説し、いくつかの測定例を紹介する。

図1は仮想的な赤外吸収スペクトルである。スペクトルAとBは外部影響のある場合とない場合、あるいは異なる影響下にあるスペクトルである。例えばある方向の電場の与えたときのスペクトルが(A)であり、逆方向の電場を与えたときのスペクトルが(B)である。測定の目的はこのAとBの差を正確・精密に測定することである。熱的な発光源からの赤外線を用い、分散型の分光器で測定する通常の測定の場合には、AとBを独立に測定する。その差スペクトルが(A-B)

¹⁾ 放送大学教授 (「自然と環境」コース)

に示されている。(A+B)はAとBの影響が打消しあっているスペクトルであるから、外部影響のない通常の測定のスpectrumに対応する。

図1ではそれぞれのspectrumが明瞭に得られているが、実際の測定では図のように、「理論どおり」に得られることは稀である。まず、spectrum (A) と (B) は時間的にずれた状態で得られたものである(図のケース(2)に対応)。試料や装置が同一条件にあったとはみなせないこともある。また、同じ(A)および(B)のそれぞれにおいても、測定した領域(異なる周波数 ν の位置)の時間もずれている(図のケース(1)に対応)。

図1ではそれぞれのspectrumは本来の信号のみを示してあるが、どのような測定にあっても雑音(ノイズ)の問題から逃れることはできない。信号が雑音に埋もれてしまっていることも少なくはない。また、差の大きさは、本来のspectrum強度の数値も小さい場合がほとんどである。本稿で紹介する円偏光二色性spectrumの大きさは、本来の赤外spectrum強度の4

～5桁程度小さな差である。このような場合には雑音の問題は深刻である。

以上述べたことを図1の上の位置関係で言えば、ケース(1)は横軸上の測定点に時間的なラグがあり、測定の同一条件が保証されておらず、差の計算の信頼性が低くなることである。これを「測定時間差の欠点」と呼ぶことにしよう。この欠点は以下で述べるFourier変換分光法で克服できる。ケース(2)は、図1の縦軸方向に並置したspectrumの差を得ることである。この場合、前記のような「測定時間差の欠点」も混ざって、横軸の位置関係が揺らいでしまうことと同時に雑音の中から微弱な信号を拾い出す(直接にA-Bを検出)ことの困難がある。後者を「微弱信号獲得の困難」と呼ぶことにしよう。この困難は以下で述べるロックイン検出で克服できる。

以上のように、外部からの振動(擾乱)を周期的に与え、対応して生じる異なる分光学的状態の差spectrumを感度良く、信頼性高く測定する方法、すなわち、図1の横軸方向(1)と縦軸方向(2)のspectrum状態を同時に、あるいは極く短時間に測定する方法が求められるのであるが、赤外分光法では二重変調Fourier変換分光法(Double Modulation Fourier Transform Spectroscopy, DM-FTIR)として実現できている¹⁾。これらについて、以下で簡単に紹介する。

2. Fourier変換分光法

DM-FTIRによるspectrum処理を考える前に、Fourier変換赤外分光法(FTIR)におけるspectrum処理の要点を理解しておく必要がある²⁾。

(1) Fourier変換分光法の原理と利点

マイケルソン型の干渉計を用いるFTIRの概念図を図2に示した。光源(S)からの赤外線を半透鏡(B、ビームスプリッターとも言う)で2つに分割し、1つを固定鏡(M_f)、他を移動鏡(M_v)に導入し、それぞ

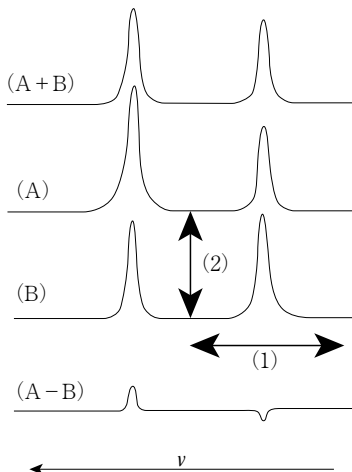


図1 差spectrum

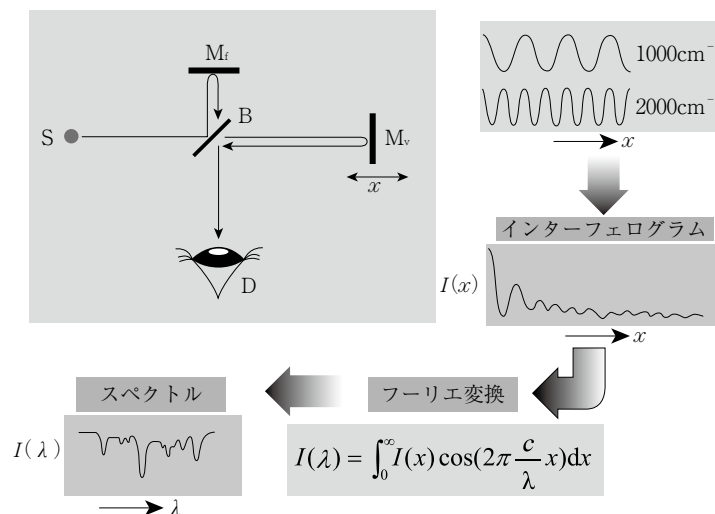


図2 Fourier変換分光法の概念図

れから反射した赤外線を移動鏡の位置に応じた光路差 (x) をつけた後、再び半透鏡で混ぜ合わせ、干渉した赤外線を測定すべき試料に導入した後に検出器に取り入れる。その結果、信号の処理系が得るのは、距離 (x) の関数としての赤外光の強度パターン、すなわちインターフェログラム $I(x)$ である。これをFourier変換して、振動波数（赤外分光では波長 λ の逆数である波数 $\tilde{\nu}$ を用いる。図2では波長 λ で示してある）の関数としての赤外強度パターン、すなわちスペクトル $I(\tilde{\nu})$ が得られる。インターフェログラムとスペクトルの数学的関係は、

$$I(\tilde{\nu}) = \int_{x=-\infty}^{x=+\infty} I(x) \exp(-2\pi i \tilde{\nu} x) dx \quad (1)$$

である。

プリズムや回折格子を用いた分散型の分光法と異なり、干渉型の分光法では光源からの赤外光を波長に分散させず、半透鏡からの検出器側に来る光はすべて取り入れるので、可視・紫外線領域に比べて感度の低い赤外光領域の検出器にとっては大きな利点となる。これをthroughputの利得あるいはJacquinotの利得と呼ぶ。比較的強度のある光の検出であることと、光応答の速い検出器が開発されているので、距離 x の関数であるインターフェログラム $(I(x))$ が高速で走査できる。 $I(x)$ の各点には測定周波数のスペクトル強度のすべての情報が含まれているので、図1のスペクトルの横軸を同時に観測していることになる。これをmultiplexの利得あるいは Fellgett の利得と呼ぶ。光路差を生じさせている可動鏡の移動距離は、干渉計に同軸的に投入したレーザー光線が生成する干渉パターン（フリッジ）を計数することで、レーザー光の精度で距離を決めることができる。これによって、差スペクトルを得る場合の重要な要件であるスペクトル振動数の精度と位置決め安定度が保証される。これをConnesの利得と呼ぶ。

(2) Fourier変換分光法の実際の注意点

実験的にFTIR測定をする場合には、実際的ないくつかの問題が生じる。可動鏡の動く範囲は有限であり、0からスペクトルとして求めたい分解に対応する L (光路差 $x=2L$) までである (スペクトル分解 $\Delta\tilde{\nu}$ は $1/2L$ である)。そこで、理想的な (x を $-\infty$ から $+\infty$ まで測定したと仮定した) $I(x)$ に実際の測定範囲だけに有限の値 (例えば、 $A(x)=0$ ($x<0, 2L<x$), $A(x)=1$ ($0\leq x\leq 2L$) の箱型の関数) を掛けたもののFourier変換をして、実際のスペクトルが、

$$I'(\tilde{\nu}) = \int_{x=0}^{x=2L} I(x) \exp(-2\pi i \tilde{\nu} x) dx = \int_{x=-\infty}^{x=+\infty} A(x) I(x) \exp(-2\pi i \tilde{\nu} x) dx \quad (2)$$

のように得られる。

(2-1) コンボリューション定理

ここで、2つの関数 $h(x)$ と $f(x)$ に対して、

$$g(x) = \int_{-\infty}^{+\infty} h(t) f(x-t) dt = \int_{-\infty}^{+\infty} f(t) h(x-t) dt \quad (3)$$

と定義される関数 $g(x)$ を $h(x)$ と $f(x)$ のコンボリューションあるいは重畳積分と呼ぶ。式 (2) の関係を $g(x) = h(x) * f(x)$ と表す。一方、 $f(x)$ のFourier変換を $F(\nu)$ とし、 $F(\nu) = \widetilde{f(x)}$ と表すことにする。そうすると、次のコンボリューション定理

$$\begin{aligned} \widetilde{f(x) * g(x)} &= F(\nu) \cdot G(\nu) \\ \widetilde{f(x) \cdot g(x)} &= F(\nu) * G(\nu) \end{aligned} \quad (4)$$

が成り立っている。真のスペクトル $h(x)$ を $f(x)$ の性質をもつ関数で観察することに対応する。図3はその関係を視覚的に表したものである。真の対象に対して、焦点の合っていないカメラの撮影（コンボリューション）で得られた結果が、このボケた写真となる。

FTIRで使う式 (2) の $A(x)$ を装置関数あるいはアボダイゼーション関数という。分解能を高めるためには箱型関数が良いが、その場合には、1本のスペクトル線に対して、スペクトルの両側に負の方向への跳ね返り (rippleという) が生じ、近接した強い線と弱い線があった場合に、弱い線が打ち消される影響がある。リップルをなくするには三角形の関数が良いが、この場合には線幅が広がってしまい、分解能低下の原因となる。実際にはスペクトルの特徴に合わせ、各種のアボダイゼーション関数を選択することになる。

(2-2) サンプリング間隔とスペクトルの折り返し

実際の測定ではコンピュータでFourier変換を行うために、インターフェログラムの測定点は離散的な点の系列になり、多くの分光計では可動鏡の移動距離と測定点はHe-Neレーザーで生じる干渉パターンのピークを参照して決めている。すなわち、式 (2) の関数 $A(x)$ として、一定間隔 h で1の値が繰り返す櫛関数 $\text{III}_h(x)$ を掛けた結果のFourier変換をすることになる。これにコンボリューション定理を適用すると、

$$I'(\tilde{\nu}) = I(\tilde{\nu}) * \left[\frac{1}{h} \text{III}_{1/h}(\tilde{\nu}) \right] \quad (5)$$

となる。ここで、 $I'(\tilde{\nu})$ は数学的に偶関数で、負の波

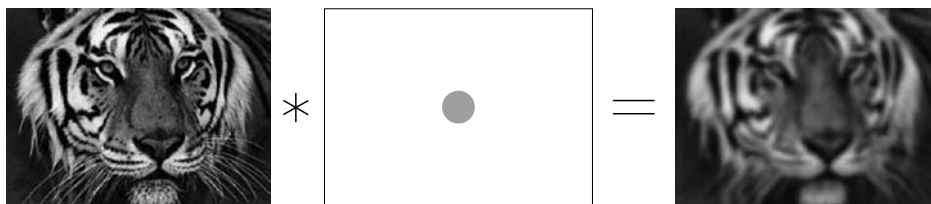


図3 コンボリューションの実例

数にも値を持っていることに注意して、(5) 式を図示すると図4のようになる。

これは回折格子を分散素子とした分散型の分光において、異なる次数のスペクトルが重なってくる事情に対応している。スペクトルの折り返しによる重なりを避けるには、

$$\frac{1}{2h} \geq \tilde{\nu}_{\max} \quad (6)$$

となるような h を選ぶ必要がある。He-Neレーザーの波長は632.8 nmであるから、その波長をサンプリング間隔に用いた場合の測定可能最大波数は7899 cm^{-1} になる。一般に、信号に含まれる最大周波数の2倍の周波数の逆数となる間隔でサンプリングする必要がある。これを(Nyquistの)標準化定理あるいはサンプリング定理と呼ぶ。

その他、FTIR分光法を利用する場合の注意点については、その原理とともに著者の別稿にやや詳しく解説した³⁾。

(3) 雑音とSN比

どのような測定にも入り込んでくるランダムな雑音(ノイズ)を除くあるいは雑音に対する信号の相対的強度(SN比)を向上させることは、すべての測定法において最も肝要な事柄である。一般的に、測定信号強度は測定時間 T の積算に比例し、ランダムな雑音は \sqrt{T} に比例して打消し合うので、結局、SN比は \sqrt{T} に比例する。FTIR分光法では走査回数の積算で、SN比を向上できる。

しかし、実際には積算を限りなく行うことはできない。試料の量が変化する、試料の化学的な変化が起こる、分光器の特性が変化する(特に液体窒素で冷却した検出器を用いている場合には、液体窒素の消耗がある)などがあり、これらの要因をどのように克服するかは、それぞれの場合によって異なってくる。

検出器に入る雑音をあらかじめ防止するために様々

な工夫がある。分光計を除振台に乗せるのは光学系の配置(alignment)を安定にするだけでなく、外部からの機械的振動を除去することに効果がある。分光室を一定の温度・湿度のもとに管理することは装置の安定性に必須である。分光計をできるだけ低温にするのは装置内のあらゆるところからやってくる熱雑音を抑えるのに有効である。装置内部を黒に塗っておくことは、装置内の迷光が検出器に入ることを防ぐためである。当然、室内の照明の光や条件の異なる大気などが分光計内に入り込まないように、装置を気密にするあるいは覆いをすることもある。外部磁場に敏感な装置あるいは磁氣的性質を測定する装置では磁気シールドが欠かせない。

(4) バンドパスフィルター

測定すべき周波数領域に関係のない雑音が検出器に入らない工夫が必要である。それが以下に述べる光学フィルターないしはバンドパスフィルターの使用である。

図5には上段にスペクトルの信号(S)を下段に雑音(N)を示した。(a)と(b)は信号と雑音のそれぞれがFourier変換の関係になっている。(b)の上を示したように、一定の周波数に一定の強度をもつものがスペクトルの信号(S)である。これを時間の関数の電氣的な信号として検出する場合は、図の左の(a)のようになるはずである。一方、検出器が受ける雑音の周波数は、比較的広いスペクトル分布をもっており、強度は時間的に変動する。検出器の感じる電磁波の強度は、(b)のスペクトル分布で積分した面積に対応し、影で示してある。

広い周波数分布をもつ雑音の中からスペクトル信号を取り出すには、スペクトル周波数の電気信号は通過させ、それ以外の周波数は取り除く光学的なバンドパスフィルターを用いることが考えられる(図5の(c))。この場合、フィルターを通過する周波数が目的のスペ

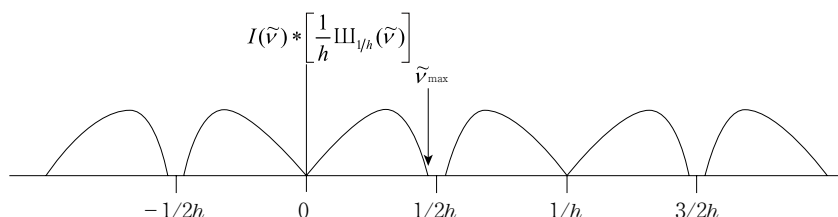


図4 サンプリングとスペクトルの折り返し

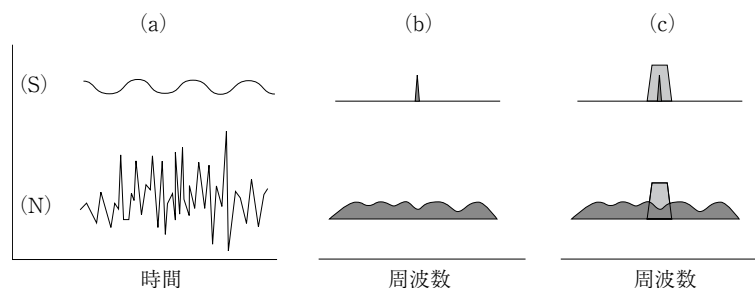


図5 バンドパスフィルター

クトル信号の周波数を含み、帯域幅が狭いほど雑音を取り除く効果は大きくなる。帯域幅の平方根の大きさが通過させる雑音信号に比例する。すなわち、帯域幅が100分の1になると、雑音強度は10分の1になる。このようにして、バンドパスフィルターによって雑音の中から微弱な信号を拾い出すことが可能となる。バンドパスフィルターの性能は、通過させる中心周波数を帯域幅で割った比のQで表される。Qの大きいほど、雑音除去能力は高いのであるが、フィルター部材などの制限でQ値はおおよそ100程度と言われている。さらに、フィルターの中心周波数は固定されているので、広い範囲のスペクトルを測定する分光法への応用には限界がある。

3. ロックイン検出法

前記の欠点を克服しているのがロックイン増幅器である。中心周波数が1 kHzで帯域幅が0.1mHz、すなわちQ値として 10^7 程度が容易に可能であり、しかも中心周波数を連続的に変えることが可能である。

強度がAで角振動数 ω の微弱信号 $A\sin(\omega t + \alpha)$ があったとする。これに装置が内部から発生した参照信号 $\sin(\omega t + \beta)$ を掛け合わせる。ここで、 α と β はそれぞれの信号の位相である。そうすると、

$$A\sin(\omega t + \alpha) \cdot \sin(\omega t + \beta) = (A/2)\{\cos(\beta - \alpha) - \cos(2\omega t + \alpha + \beta)\} \quad (7)$$

から、直流部分 $(A/2)\cos(\beta - \alpha)$ と、 $2\omega t$ で振動する交流部分と直流部分が乗った部分 $(A/2)\{\cos(\beta - \alpha) - \cos$

$(2\omega t + \alpha + \beta)\}$ に分割されることになる。 $2\omega t$ から十分離れた周波数のみを通過させるローパスフィルター(LPF)からは直流部分のみが出力する。すなわち、さまざまな周波数の入力信号のうち、装置が設定した参照信号の周波数に一致するものが直流出力として取り出せることになる。

ここで、位相 α と β を考えて、直流部分の出力の様子を見ると、次の図7のようになる。ロックイン増幅器では、参照信号はサイン関数ではなく、方形に変化する信号を加えることが多い。これは測定信号の周波数に参照信号を同期させる電気的なスイッチ素子で同期を行っているためである。このような検出法を位相敏感検出(Phase Sensitive Detection)と呼ぶ。位相 α と β の位相が同じ場合、直流信号は+で最大値をとるが、位相差が 180° では信号の符号は逆転する。位相差が 90° ではLPFからの出力はゼロになる。

そこで、PSDでのスイッチの切替のタイミングを調節するために、PSDに入る前の参照信号の位相を調節する仕組みが備えられている。これを移相回路(Phase Shifter)と呼ぶ(図8)

以上で、雑音のある中から微弱な信号を取り出すロックイン検出の原理を解説した。

4. 二重変調Fourier変換法

ロックイン検出とFourier変換法を結合すれば、図1の横軸(周波数領域)と縦軸(同じ周波数の位置におけるスペクトルの差)をほぼ同時に観測できる可能

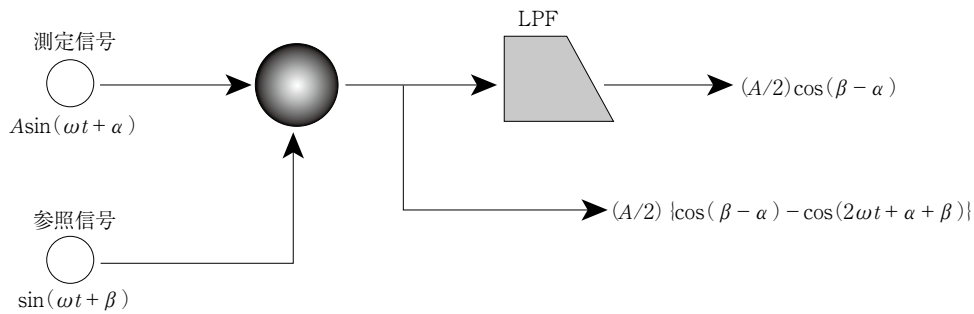


図6 ロックイン検出の原理

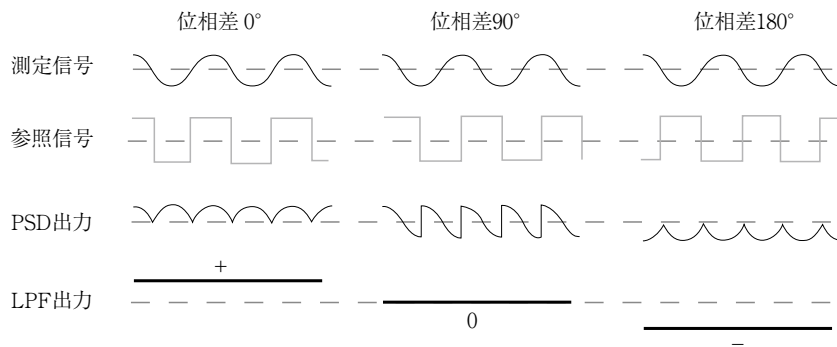


図7 位相敏感検出

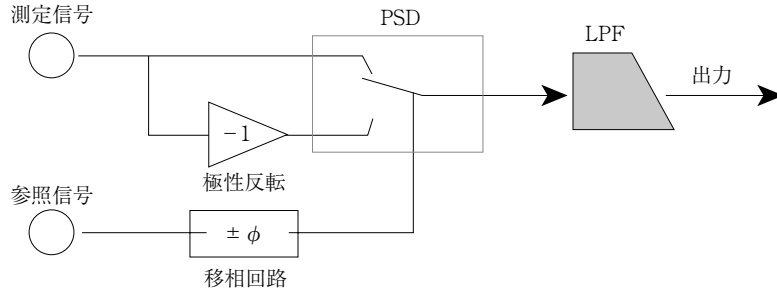


図8 位相敏感検出と移相回路の組み合わせ

性が明らかになった。これをどのように実現するのかを次に考えよう。

まず、検出器が受ける信号強度は、ロックイン検出器の周波数 $f_m = \omega_m/2\pi$ で変調を受けたスペクトル $I(\tilde{\nu})$ であり、

$$I(\tilde{\nu}, t) = I_{dc}(\tilde{\nu}) + I_{ac}(\tilde{\nu}) \sin \omega_m t \quad (8)$$

のように表される。ここで、変調の信号は便宜上、サイン波で表現しておいた。 $\tilde{\nu}$ は赤外線の波数である。 $I_{dc}(\tilde{\nu})$ と $I_{ac}(\tilde{\nu})$ はロックイン検出で、それぞれ、直流および交流の成分、すなわち、

$$I_{dc}(\tilde{\nu}) = \frac{1}{2} [I_A(\tilde{\nu}) + I_B(\tilde{\nu})],$$

$$I_{ac}(\tilde{\nu}) = \frac{1}{2} [I_A(\tilde{\nu}) - I_B(\tilde{\nu})] \quad (9)$$

である。ここでAとBは図のAとBに対応する。分光学的な吸光度Aと結びつけるために、上式を書き直すと、

$$I_{dc}(\tilde{\nu}) = \frac{1}{2} I_0(\tilde{\nu}) [10^{-A_A(\tilde{\nu})} + 10^{-A_B(\tilde{\nu})}],$$

$$I_{ac}(\tilde{\nu}) = \frac{1}{2} I_0(\tilde{\nu}) [10^{-A_A(\tilde{\nu})} - 10^{-A_B(\tilde{\nu})}] \quad (10)$$

となる。 $I_0(\tilde{\nu})$ は吸収のない場合のスペクトル強度分布である。 $I_{ac}(\tilde{\nu})$ と $I_{dc}(\tilde{\nu})$ の比を計算すると、

$$I_{ac}(\tilde{\nu})/I_{dc}(\tilde{\nu}) = \tanh \left\{ \frac{1}{2} (\ln 10) [\Delta A_{AB}(\tilde{\nu})] \right\} \quad (11)$$

となる。ここで、 $\Delta A_{BA}(\tilde{\nu}) = A_B(\tilde{\nu}) - A_A(\tilde{\nu})$ であり、1より小さな値 x に対して、 $\tanh x \approx x$ が成立するので、結局、上式は、

$$I_{ac}(\tilde{\nu})/I_{dc}(\tilde{\nu}) = 1.1513 \Delta A_{BA}(\tilde{\nu}) \quad (12)$$

となる。ここまで、検出器の感じる光の強度を $I(\tilde{\nu})$ で示してきたが、光の強度は検出器が出力する電圧 $B(\tilde{\nu})$ に比例すると考えてよい。 $B(\tilde{\nu})$ と光路差 x の関数であるインターフェログラム $V(x)$ は

$$V(x) = \int_0^\infty B(\tilde{\nu}) \cos[2\pi\tilde{\nu}x - \phi(\tilde{\nu})] d\tilde{\nu} \quad (13)$$

のように、互いにFourier変換の関係で結ばれている。ここに $\phi(\tilde{\nu})$ は分光器の構成に依存する位相である。実際には、 $B(\tilde{\nu})$ はロックイン検出器で変調を受けているので、その結果を代入すると、

$$V(x) = \int_0^\infty [B_{dc}(\tilde{\nu}) + B_{ac}(\tilde{\nu}) \sin \omega_m t] \cos[2\pi\tilde{\nu}x - \phi(\tilde{\nu})] d\tilde{\nu} \quad (14)$$

となる。この出力信号を電気的なローパスフィルターに通すと、 $f_m (= \omega_m/2\pi)$ を含む高周波成分はカットされ、通常の平均的な透過スペクトルを得ることができる。すなわち、

$$V_{dc}(x) = \int_0^\infty B_{dc}(\tilde{\nu}) \cos[2\pi\tilde{\nu}x - \phi_{dc}(\tilde{\nu})] d\tilde{\nu} \quad (15)$$

である。

次に検出器の信号を、 f_m を中心とするバンドパスフィルターを通し、 f_m に同期させたロックイン検出器に導入する。ロックインのCR回路による時定数 (τ) の逆数は周波数 f_m で検出する帯域幅に対応する。そして検出する周波数範囲を中心周波数からほぼ指数関数的に減衰することによって決めている。一方、マイケルソン型の干渉計では可動鏡の速度を v とすると、波数 $\tilde{\nu}$ のスペクトル成分は干渉計で $2v\tilde{\nu}$ の周波数の変調成分になる。すなわち、ロックイン検出器が出力とする信号は $\exp[-(2v\tilde{\nu})\tau]$ を $B_{ac}(\tilde{\nu})$ にかけたものになる。結局、交流成分のインターフェログラムは、

$$V_{ac}(x) = \int_0^\infty B_{ac}(\tilde{\nu}) \exp[-(2v\tilde{\nu})\tau] \cos[2\pi\tilde{\nu}x - \phi_{ac}(\tilde{\nu})] d\tilde{\nu} \quad (16)$$

となる。以上で、直流成分（本来のスペクトル）と、交流成分（差スペクトル）のインターフェログラムが生成できたので、それぞれのFourier変換を行って比をとると、

$$\text{FT}[V_{ac}(x)]/\text{FT}[V_{dc}(x)] \approx 1.1513 \exp[-(2v\tilde{\nu})\tau] \Delta A_{BA}(\tilde{\nu}) \quad (17)$$

となる。係数 $1.1513 \exp[-(2v\tilde{\nu})\tau]$ は予め校正用の測定によって実験的に決めることができるので、結論として $\Delta A_{BA}(\tilde{\nu})$ が得られることになる。

通常のFTIR装置における可動鏡の速さ v は 0.15 cm s^{-1} 程度であり、測定すべき赤外スペクトルの範囲は $400 \sim 4000 \text{ cm}^{-1}$ なので、検出器が受ける干渉計による変調周波数 $2v\tilde{\nu}$ は $120 \sim 1200 \text{ Hz}$ ということになる。ロックイン周波数 f_m の両側に出現する交流成分である差スペクトルの周波数範囲が、直流成分である通常の吸収スペクトルの周波数範囲に重ならないように、ロックイン周波数 f_m を決めることが重要であり、前記の数値から、 f_m は 10 kHz 程度を選んでいる。これを実現するためにも応答時間の速いMCTあるいは

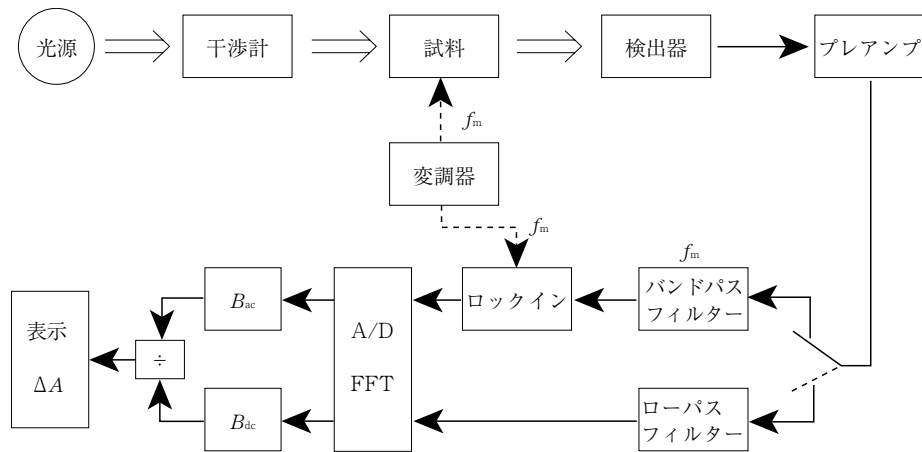


図9 DM-FT分光計の概念図

InSb検出器が用いられている。一方、ロックインの時定数は、スペクトルの高波数側の変調周波数1200 Hzを通過させるために十分に長く、一方で、直流成分と重ならないように十分に短く設定する必要がある。実際には $\tau \sim 1$ ms程度を用いるようである。

以上より、ロックイン検出と干渉型FT分光法を用いた差スペクトルを測定する原理と、装置の構成(図9)が決まった。この方式では、マイケルソン干渉計による赤外光の変調とロックイン検出器による外部振動のための変調という2つの変調を行い、差スペクトルを敏感に迅速に測定できることになる。

5. 振動円偏光二色性分光法

分子の立体的な形が互いに鏡像的な関係にある分子、通常の実験では右手と左手の関係にある分子のそれぞれを対掌体(enantiomer)と言う。これらは通過する電磁波の偏光面を傾ける方向が逆になる、あるいは左右の円偏光に対する吸収強度が異なるという光学活性をもっているため、光学活性分子あるいはキラリな分子とも呼ばれる。

糖類、アミノ酸の分子自身もキラリティーは生命現象に基本的な影響をもっており、最近では、核酸や鞭毛タンパク質など、らせん構造がキラリティーも研究の対象になっている。これらを見分ける分光法として、振動光学活性(Vibrational Optical Activity, VOA)分光法がある。振動分光法に赤外分光法とラマン分光法という相補的な手法があるように、VOAにも赤外吸収スペクトルの左右円偏光の差を測定する振動円偏光二色性(Vibrational Circular Dichroism, VCD)分光法とラマン光学活性(Raman Optical Activity, ROA)分光法とがある。それぞれの測定では、元のスペクトルに対して 10^{-4} 程小さな左右円偏光による差を検出しなければならないので、装置の光学的な精度と感度には通常の振動分光計以上の性能が求められる。以下では、VCDの測定の原理を

紹介する⁴⁾。

(1) 円偏光の作り方

物質中の光の速度は入射光と物質との相互作用によって決まり、通常は電磁波の物質中の(位相)速度(c)は真空中(c_0)よりも遅くなる。その程度を示したものが屈折率(n)である。すなわち、 $c=c_0/n$ となる。さて、 z 軸方向に進行する直線偏光を x 軸と y 軸に区別のある結晶に入射させたとする。入射光は結晶の物質と相互作用しながら進行するので、結晶軸方向の性質によって進行速度が変わりうる。光の偏光方向を y 軸に対して 45° 傾けて入射させると、結晶は x, y 軸成分へ分割された直線偏光が来たのと同じ反応をする。入射光に対して等方的($n_x=n_y$)な物質であるなら、結晶を出たときの光の電場ベクトルは吸収による減衰以外に変化はない。

次に、 x 方向と y 方向の屈折率が異なり(このような性質を複屈折という)、 x 軸偏光と y 軸偏光の位相差が出口で 90° (波長 λ の $1/4$ に対応する)ずれるような厚さの結晶を用意する。その結晶を出た2つの偏光を合成した電場ベクトルは、図10のように進行方向に回転することになる。すなわち、直線偏光を円偏光に変換できることになる。

z 軸を進行する x, y 面内の円偏光の電場ベクトルは $u_x = \cos \omega(t-z/c)$ と $u_y = \pm \sin \omega(t-z/c)$ となる。 $+\sin$ が左円偏光、 $-\sin$ が右円偏光である。 $(u_x = \cos \omega t, u_y = \sin \omega t)$ の組に対して、ある z の値における x, y 面内の電場ベクトルの時間変化を z 軸を振り向く方向から見ると、図10(b)に示したように時計回りに回転する。

直交する2つの直線偏光に 90° の位相差を生じさせるこのような結晶を $1/4$ 波長板(quarter-wave retarder)と言う。結晶の厚さが変わり、位相差を波長に変換して、半波長の整数倍および $1/4$ 以外の場合は、結晶から出た光は楕円偏光になる。

そこで、赤外光に対して透明な結晶(例えば、ZnSe)に圧電素子を貼り付け、交流電圧により結晶

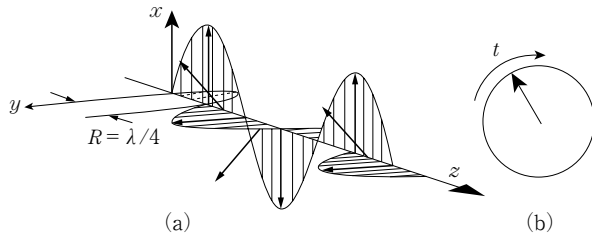


図10 1/4波長板と円偏光

図の座標の原点から $z = R (= \lambda/4)$ の間に1/4波長板が置かれているのだが、図の上では省略されている。

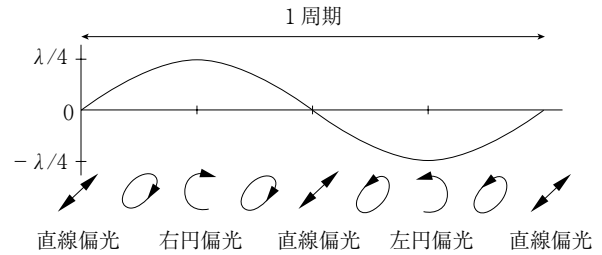


図11 光弾性変調器 (PEM) と出力の偏光

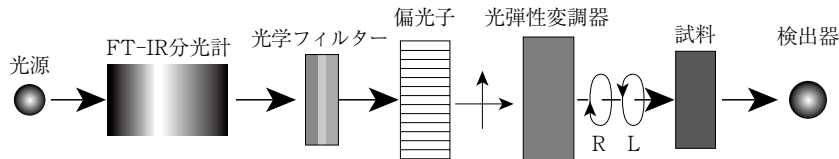


図12 VCD測定装置のブロック図

に圧力を加え、その振動数で周期的に複屈折を発生させる。光学素子の出口での x 軸偏光と y 軸偏光の位相差 (Phase difference)、すなわち遅延 (R : retardation) を $+\lambda/4$ と $-\lambda/4$ の範囲で変動すると、出口の光は図8のような偏光の変動を示すことになる。このような素子を光弾性変調器 (PEM: Photoelastic Modulator) と呼び、VCD装置の最も重要な素子となる。なお、この図11からもわかるように、直線偏光は変調器の駆動1周期に対して2回出現し、左右のどちらかの円偏光は1回出現する。すなわち、駆動周波数の2倍の周波数によってロックインアンプ等で位相検波・増幅することで直線偏光が、駆動周波数と同じ周波数では円偏光が検出できる。

以上より、直線偏光を3次的に異方性のある(軸方向で屈折率が異なる)結晶、分子配向がある媒質を通過すると偏光面が変動することが理解できる。一般的には楕円偏光になり、その傾き、すなわち旋光度は媒質の軸方向による屈折率の差と試料の厚さの関数になる。この旋光度測定に対して、左右の円偏光に対する物質の吸収の差を観測するのが円偏光二色性(CD)分光である。

図12はVCD分光計の概念図である。通常のFT-IR装置において、光路差で変調された赤外光と検出器の間に円偏光生成装置を挿入し、試料を通過した赤外光を検出するようにしたものである。左右円偏光はPEMにより光の偏光状態を固定された周波数で変調し、偏光子(Polarizer)と組み合わせて左右の円偏光を交互に発生させる。検出器はその周期に位相同調された信号を検出することになる。

(2) VCD信号の処理

4節までは、干渉計の光路差を x で表現し、5節(1)では1/4波長板の (x, y) 面に垂直な方向に進行する赤外光の位置座標を z で表現した。この項からは、PEM内を (x, y) 面に垂直な方向に進行する赤外光の

位相差を問題にするので、その空間座標を δ で表現する。

PEMの偏光軸に対して、 x, y 軸に45°に傾いて入射させた直線偏光は、PEMを通過した所で、位相差 $\delta = \delta_x - \delta_y$ が生じる。変調された赤外光の電場ベクトルは、 E_0 を入射光の電場の振幅、 e_x と e_y を直交する単位ベクトルとして、

$$E_m(\tilde{\nu}_i) = \left[\frac{E_0(\tilde{\nu}_i)}{\sqrt{2}} \right] (e_x + e_y e^{i\delta}) \quad (18)$$

となる。(18)式は次のように分割できる。

$$E_m(\tilde{\nu}_i) = \left[\frac{E_0(\tilde{\nu}_i)}{\sqrt{8}} \right] \left[(1 - ie^{i\delta})(e_x + ie_y) + (1 + ie^{i\delta})(e_x - ie_y) \right] \quad (19)$$

ここで $(e_x + ie_y)$ と $(e_x - ie_y)$ は、それぞれ、右および左円偏光の単位ベクトル表示に対応している。

この円偏光が光学活性物質を通過して、左右円偏光のそれぞれに異なる吸収が起これると (a_L, a_R をそれぞれの吸光度に対応する量とする)、その結果の電場ベクトルは、

$$E_m(\tilde{\nu}_i) = \left[\frac{E_0(\tilde{\nu}_i)}{\sqrt{8}} \right] \left[(1 - ie^{i\delta})(e_x + ie_y) e^{-\alpha_R/2} + (1 + ie^{i\delta})(e_x - ie_y) e^{-\alpha_L/2} \right] \quad (20)$$

となる。光の強度は当該の電場ベクトルとその複素共役を掛ければよい。すなわち、

$$I(\tilde{\nu}_i) = E_m(\tilde{\nu}_i) \cdot E_m^*(\tilde{\nu}_i) = \left[\frac{I_0(\tilde{\nu}_i)}{2} \right] \left[(e^{-\alpha_R} + e^{-\alpha_L}) + (e^{-\alpha_R} - e^{-\alpha_L}) \sin \delta \right] \quad (21)$$

ここで、左右円偏光の位相差 δ はPEMの変調の周波数の関数であり、

$$\begin{aligned}\sin \delta &= \sin(\delta_0^i \sin \omega_m t) \\ &= 2 \sum_{n=1}^{\infty} J_{2n-1}(\delta_0^i) \sin(2n-1)\omega_m t\end{aligned}\quad (22)$$

となる。ここで、 δ_0^i はPEMによって生じる波数 $\tilde{\nu}^i$ に対応する最大の位相差であり、 ω_m はPEMの角周波数である。 $J_{2n-1}(\delta_0^i)$ はベッセル (Bessel) 関数であり、 n は整数である。式 (21) と (22) から、検出器は直流成分 I_{DC} と I_{AC} 交流成分を感じることになる。その角周波数 ω_m の信号における比は、

$$\frac{I_{AC}(\tilde{\nu}_i)}{I_{DC}(\tilde{\nu}_i)} = 2J_1(\delta_0^i) \left(\frac{e^{-\alpha_R} - e^{-\alpha_L}}{e^{-\alpha_R} + e^{-\alpha_L}} \right) G(\tilde{\nu}_i)\quad (23)$$

となる。ここで、 $G(\tilde{\nu}_i)$ はフィルターやロックインアンプなどの電気系の利得 (ゲイン) を含めた装置に固有の定数であり、光学活性物質の測定とは別に決めておくべき値となる。上式の分母と分子に $e^{(\alpha_R + \alpha_L)/2}$ を掛け、小さな値 x に対して、 $(e^x - e^{-x}) / (e^x + e^{-x}) = \tanh x \approx x$ となる関係を考慮すると、

$$\begin{aligned}\frac{I_{AC}(\tilde{\nu}_i)}{I_{DC}(\tilde{\nu}_i)} &= 2J_1(\delta_0^i) [(\alpha_L(\tilde{\nu}_i) - \alpha_R(\tilde{\nu}_i)) / 2] G(\tilde{\nu}_i) \\ &= 2J_1(\delta_0^i) [2.303(A_L(\tilde{\nu}_i) - A_R(\tilde{\nu}_i)) / 2] G(\tilde{\nu}_i)\end{aligned}\quad (24)$$

となる。ここでは A は吸光度である。 $\tilde{\nu}_i$ がPEMの1/4波長に等しい場合、 δ_0^i は $\pi/2$ であり、 $J_1(\delta_0^i) \approx 0.57$ となる。測定値 $\frac{I_{AC}(\tilde{\nu}_i)}{I_{DC}(\tilde{\nu}_i)}$ から $A_L(\tilde{\nu}_i) - A_R(\tilde{\nu}_i)$ を決めるためには、 $2J_1(\delta_0^i)G(\tilde{\nu}_i)$ が予めわかっている必要がある。これを実験的に決めるには、**図12**の試料の代わりに、複屈折板と検光 (偏光) 子を置き (この両者を組み合わせてStress Plateと呼ぶことがある)、測定を行うと校正曲線が観測でき、実際の測定波数における感度を定めることができる⁴⁾。

6. 振動円偏光二色性スペクトル

フィトンチッド (phytoncide) とは、本来、樹木が発散する殺菌性の化学物質のことであるが、ヒトにはリフレッシュや癒し効果があるとされ、それを求めて森林浴に親しむ人は多い。木の香りには多くの香気成分が関与しているが、炭素が10個程度のテルペン類に属するものが多い。カンファー (樟脳) はその名の由来どおりクスノキの精油の主成分であり、テルペン類の代表的な化合物である。ピネンもその名の由来を示

してマツなど多くの針葉樹に含まれ、香料や医薬品としても使われる。

ピネンは六員環と四員環から成る炭化水素であるが、二重結合の位置の違いで α -ピネンと β -ピネンの構造異性体ができ、さらに不斉炭素をもつ光学活性分子でもある。これらの振動円偏光二色性スペクトルはよく研究され、同時に測定の際の標準物質でもある。分子軌道法による理論計算でも、これらの物質のVCDおよびラマン光学活性 (ROA) スペクトルも相当に精度よく再現されているが、それらの信号の振動分光学的解釈、すなわち、分子構造と振動形との関係をこれまで築き上げられてきた概念あるいは経験とで説明する試みはなされていない。著者はこの方向に向けて、実験測定と分子軌道法理論計算、および振動分光学的解釈を結びつける研究を行ってきた⁵⁾。

VCDおよびROAスペクトルは、それぞれ対応するIRおよびRamanスペクトルの様相とはまったく異なり、それぞれ、電気双極子モーメントおよび分極率の振動座標による変化では解釈できない。また、通常の振動スペクトルによる特性振動モードとの関係についても、経験則が十分に得られていない。このような場合の研究の進め方として、類似化合物のスペクトルの比較検討、特に化合物の一部を少し変えて、そのスペクトルへの影響を調べるといった手段がとられる。一方、現在では、分子軌道理論計算の精度が上がっているので、その結果を詳細に解析するのも有効である⁵⁾。著者はこれら両方の戦略で研究を進めているが、本報告では、後者の結果の一部を予備的に紹介する。そのために、 α -ピネンのメチル基の水素の1つをヒドロキシ基および塩素で置換した化合物を用意した。今回はMyrtenyl Chlorideについての測定と理論計算の結果を紹介する。この物質は α -ピネンと同じく、六員環の2, 4位の炭素が1個の炭素で橋掛けされ、炭素骨格が四員環と六員環に分かれている (**図13**)。

図14はMyrtenyl Chlorideの赤外吸収の実測スペクトルの一部と理論計算の結果である。計算はGaussian 03プログラムを使用し、B3LYP/6-31++G**の密度汎関数法/基底関数系を用いた。この分子には塩素の位置により3つの回転異性体 (C=C-C-Clの結合が作るC-C-C 1面とC=C-C面の二面角を考えた場合、C-ClがC=Cに対してはほぼ 0° 、 -120° (**図13**では紙面の下)、 $+120^\circ$ (**図13**では紙面のの上) の3つ、それぞれ、立体配座1, 2、および3と呼ぶ) が存在する。計算によるそれぞれの存在比は、0.05、0.53、お

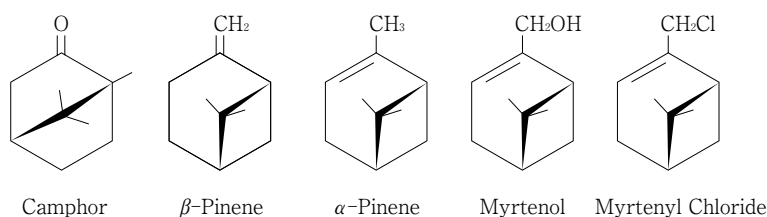


図13 カンファー、 β -ピネン、および α -ピネンとその誘導体

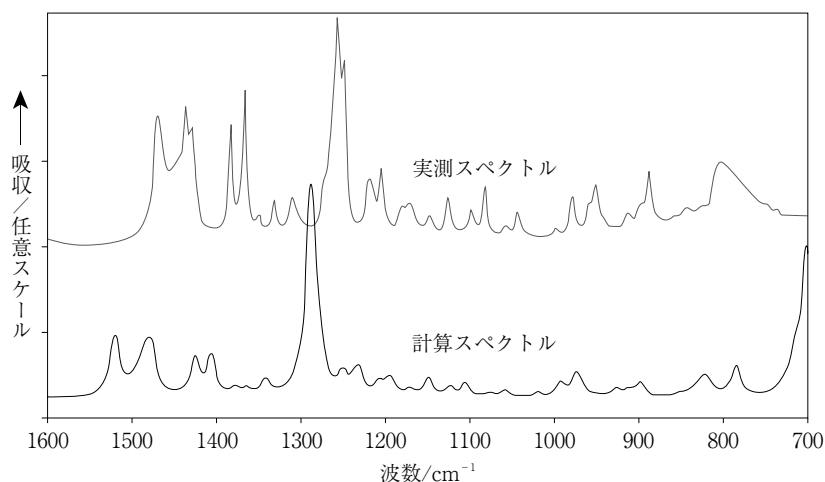


図14 Myrtenyl Chlorideの赤外吸収スペクトル

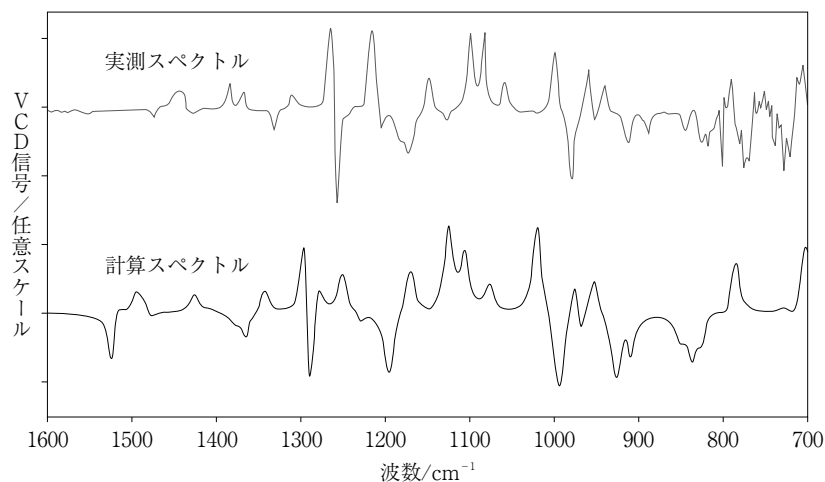


図15 Myrtenyl ChlorideのVCDスペクトル

よび0.42計算である。図14～16の計算スペクトルではこれら異性体の存在比の重率を掛けて加え合わせたものである。計算では実測スペクトルにある非調和性の効果を含めていないので、振動バンドが5%ほど高波数に出るが、全体的なパターンは実測をよく反映していると思われる。この分子は基本的にメチン基(CH)、メチレン基(CH₂)、メチル基(CH₃)と炭素骨格でできた分子である。

赤外スペクトルは、分子振動に伴う電気双極子モーメントの変化を検出するものであり、分子の局所的な官能基に特徴的なスペクトルを示すことが経験的にもわかっている。実測の1460, 1430 cm⁻¹のバンドは主にCH₃基のrocking、CH₂基のscissoringに帰属され、1270 cm⁻¹前後の2本のバンドはCH₂基のscissoringに帰属される。1250 cm⁻¹の強いバンドはCH₂基のwaggingに帰属される。700 cm⁻¹近傍にはC-Cl stretchが観測されるはずであるが、実測では検出器と試料セルの窓材のために、800 cm⁻¹より低波数では装置上の理由で正しいスペクトルは観測されない。

図15はVCDスペクトルである。通常のIRスペクトル

では、回転異性による立体配座で多少のバンドのシフトがあるものの、吸収強度は大きくは変化しないが、VCD信号の+/-は大きく変わる場合がある。これらの情報を用いて、異性体の区別および測定条件での存在比率を推測することができる。

1290-1300 cm⁻¹にかけて、+/-に変化するVCD信号が見られる。このような形状のスペクトルをcoupletと呼ぶことがある。これは同じような原子団がカップルして振動形が同位相のものと逆位相に分解した場合に起こると理解されている。このようなcoupletを用いて、逆にそのスペクトルを与える原子団と振動形を推定することができる。

このcoupletの+のVCD信号(1265 cm⁻¹)に対応する赤外吸収バンドは1257 cm⁻¹バンドの高波数側の肩を形成する吸収強度の弱いバンドである。この振動モードはCH₂基のtwistingとCH基の変角がカップルしたモードであり、この基準振動で誘起される双極子モーメントの方向に対する平行な面内で振動している。VCD信号は振動に伴う誘起双極子モーメントと磁気モーメントの内積に関係するので、このような振動モ

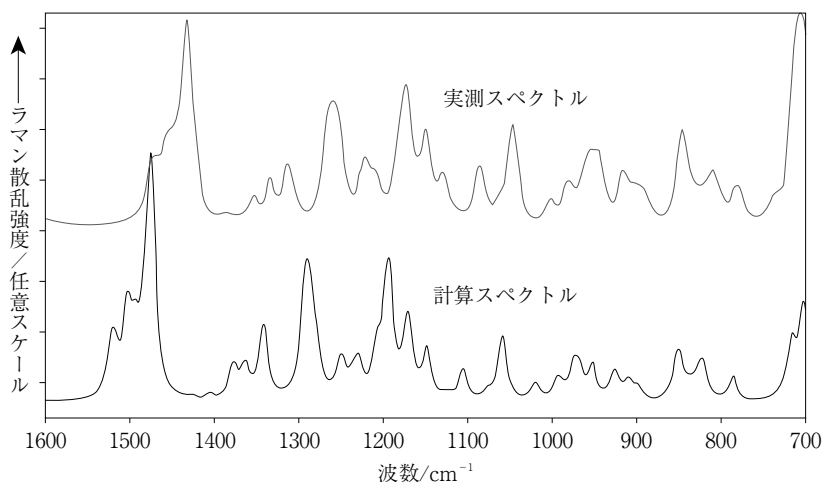


図16 Myrtenyl ChlorideのRamanスペクトル

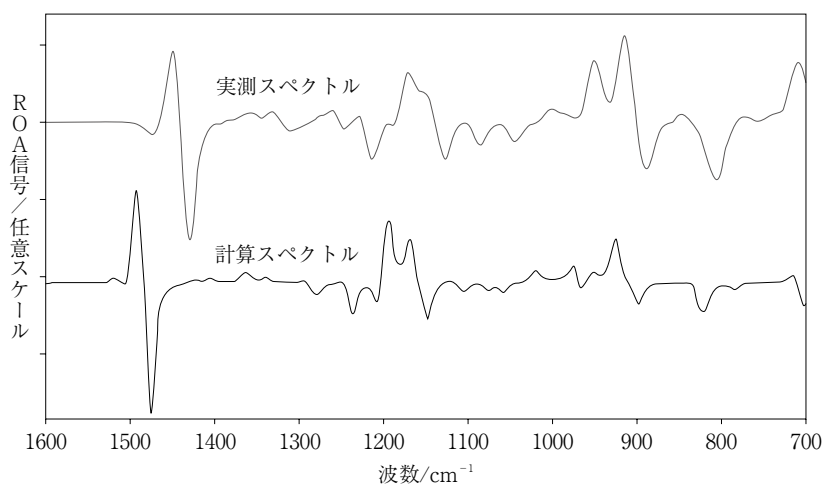


図17 Myrtenyl ChlorideのROAスペクトル

ードはVCD信号に大きく関係すると考えられる。 1256 cm^{-1} のバンドは主に CH_2Cl 基の CH_2 waggingであり、赤外吸収強度も強く、すべての回転異性体が-のVCD信号を与える。

989 cm^{-1} の+、 979 cm^{-1} の-のVCD信号はすべての回転異性体と同じパターンを与える。前者は4員環の炭素に結合する2つの CH_3 基のrockingが4員環平面を近似的な鏡面とした場合、それに対して逆対称的に振動するモードである。後者の-のVCDを与える振動は6員環の $\text{C}=\text{C}$ 二重結合を形成する CH 基の CH 変角、隣接する CH_2 基のtwistingを含む環の変形モードである。

950 cm^{-1} より低波数には、骨格変形を含むモードであり、異性体によって異なる振動数とVCDパターンを与えるが、実測は測定上の制限により、その様相を十分に捉えきれてない。

図16はRamanスペクトルである。Raman分光は振動による分極率の変化を検出するものであり、その強度は原子量の大きな局所的な運動あるいは分子骨格全体の振動を反映して考えてよい。Myrtenyl Chloride

のような分子では、回転異性体による主要なバンドのパターンの違いはあまり大きくない。すなわち、Ramanスペクトルから回転異性を論じるのは有利ではない。

図16はROAスペクトルである。VCDスペクトルと同様に、 1452 と 1431 cm^{-1} にcoupletが見られる。前者は CH_2Cl 基の CH_2 scissoringである。後者は6員環の $\text{C}=\text{C}$ 結合に近い CH_2 基のwaggingである。 1172 と 1150 cm^{-1} のROAバンドは、それぞれ、前記の2つの CH_2 基のtwistingであるが、官能基の順序は逆転している。 951 、 916 、 890 、 806 cm^{-1} に比較的大きなROA振動が見られるが、これに対応するRamanバンドは必ずしも大きなものではない。

現在、これらの情報および α -PineneおよびMyrtenolの実測と理論計算を含めて、解析中である。

謝 辞

Myrtenyl Chlorideは産業技術総合研究所の和泉 博博士により合成され、提供されたものである。VCD

およびROAスペクトルの測定と量子化学計算は時田那珂子氏によりなされたものである。

文 献

- 1) L. A. Nafie and D. W. Vidrine : Double Modulation Fourier Transform Spectroscopy (chap. 3) in 「Fourier Transform Infrared Spectroscopy」 ed. by J. R. Ferraro and L. J. Basile, (Academic Press, Inc. 1982).
- 2) P. R. Griffiths and J. A. de Haseth : Fourier Transform Infrared Spectroscopy, Second edition (John Wiley & Sons, Hoboken, 2007).
- 3) 濱田嘉昭「振動分光法の基礎 - フーリエ変換分光の現状と可能性 -」放送大学研究年報 11号 151-180 (1993).
- 4) 濱田嘉昭「赤外円偏光二色性」分光研究 60 (4) 138-144 (2011).
- 5) S. Shin, M. Nakata, and Y. Hamada : Analysis of Vibrational Circular Dichroism Spectra of (S)-(+)-2-Butanol by Rotational Strengths Expressed in Local Symmetry Coordinates, J. Phys. Chem. A 110 (10) 2122-2129 (2006).

(2011年10月26日受理)