

光音響法 —その製剤解析手法としての可能性—

広島大学大学院医歯薬学総合研究科 升島 努

1. はじめに

幼い頃、虫めがねで太陽の光を集めて黒い紙を燃やした経験はだれにもあろう。これは黒い紙が光（可視光から赤外線まで（数百ナノメートルから数十ミクロンの波長）を吸収し、そのエネルギーが熱に変わることを利用している。するとこの熱の発生量は光の吸収の度合いを示すもう一つの尺度になると考えられる。実はこの光吸収による熱を捉える分析法が光音響法である。

普通の光が一瞬ぱっと当たって出る熱による温度上昇は通常 1/1000度以下である。この微弱な熱をどのようにして捉えることができるだろうか。ここで、光音響法の原理を説明する。いま穴あき回転円盤などの様な光断続器（チョッパー）で周期的に光を切って図1の様に試料に当てる。その瞬間、試料は光を吸収して発熱し、その熱で周囲のガス（普通は空気）を膨張させ、光が来ないとガスは収縮する。この試料を密封したチャンパーの中に入れて置くと、光の on-off で圧力が上下する。この圧力の波、つまり音を末端に置いたマイクロホンで捉える。ここで、「光の吸収」は最終的に「音（圧力波）」として捉えられたことになる。この基本的な概念は、既に1880年電信王 A. G. Bellによって考案されたが¹⁾、その後長い間忘れられていた。それが、近年の高感度マイクロホンや圧電素子の開発、強い光源であるレーザーなどの普及と共に新しい分析法として注目されるようになってきたのである²⁾。

分子は光を吸収すると、その電子は高いエネルギーの励起状態に移る。その時、分子はもらったエネルギーを放出して早く元の安定状態（基底状態）に戻りたい訳だが、光（蛍光や発光）などに替える過程を経る場合を除いては、分子はラジオ体操をするように、分子の運動の様子を少しずつ変え、その度にもらったエネルギーを原子や分子の運動エネルギー（つまり熱）として放出し、元の状態に戻る（これを振動緩和という）。これが光吸収によって熱が発生する理由である。

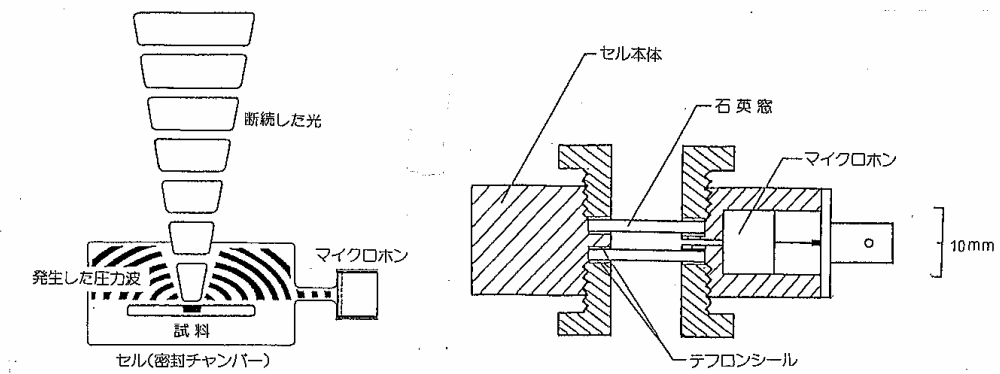


図1 光音響法の原理

図2 光音響セル（断面図）

2. 光音響法の特徴

この様な原理から、光音響法には面白い特徴がある。

- 1) [そのままでの分析] 空気(ガス)を介した間接的な測定法なので、例えば岩石、錠剤、生体試料など試料室に入りさえすればそのままの形で吸収スペクトルが測定できる。
- 2) [高感度分析] 信号が0レベルから出るので、光源をレーザーのように強くすれば信号を大きくする事ができ、わずかな量でも分析できる。
- 3) [深いところの非破壊分析] 表面より下で光吸収が起こり発熱した場合、その熱は遅れて表面に達する。その遅れを利用して試料の中深い所を壊さないで調べる事が原理的にはできる、などユニークな分析法になり得る。

3. 測定の仕方

装置の中では試料を入れる容器(セル)が一番重要である。図2にそのセルの1例を示す³⁾。スポンジやエアーステージ(振動除去のため)の上にいつも置かれるセルは円柱状の金属製で2枚の石英窓(紫外-可視光を通す、ちなみにX線はベリリウム板)に囲まれた直径10mm高さ2mmの密封空間を持つ。ここに試料を入れる。マイクロホンは、この内壁に小さな穴を開け、その奥に置かれている。窓からはいろいろな光を断続して入射する。つまり装置には図3のように光源(ここではレーザー)→光チョッパー→セルと一連の光を導入する光学系と、出てきた信号を増幅する電気的な部分がある。この中でロックインアンプが特別で、これは周囲の雑音もある中で、光の断続に同期した信号のみを選んで増幅する。光源として、レーザーは強い単色光で、高感度分析や、レンズで集光して走査すれば顕微像も得られる。赤外光源を使えば、赤外スペクトルが、また後で発見したX線を使えばX線吸収スペクトルが得られる事も分かった。

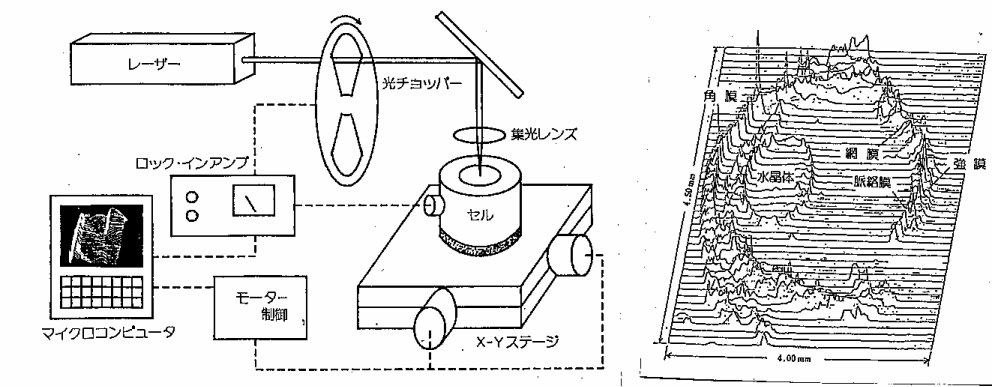


図3 光音響装置(レーザー顕微法)と ラット眼球切片への適用

4. 光音響分光法の展開 -生体・試料そのままでの測定-

図4は紫外部の皮膚のスペクトルで、サンスクリーンの性能チェックに利用された例である^{2a)}。サンスクリーンを塗ると紫外部の吸収が上昇し、皮膚との差スペクトルからサンスクリーンは350nm以下の紫外線を効率よくカットしてくれることがわかる。図5は、アスピリン錠剤の赤外スペクトルで、アセチルサルチル酸以外に 3700-2500 cm^{-1} のブロードなバンドを与える無機物が混ざっている事を示す⁴⁾。また白内障患者と健常人の眼球のスペクトルを直接取り、白内障の眼球表面の化学的な変化を調べたり^{2a)}、血液や植物試料そのままでの測定^{2a, 5)}など適用例は多い。この様な特性により、薬物の経皮吸収の追跡や化粧品などへの適用に様々な試みが考えられる。

7. X線光音響法の展開

光音響法はどのような光でもマイクロホン一つで捉えられるはずであるが、X線領域ではその試みが無かった。そこで、シンクロトロンという巨大な電子回転装置から出る強力なX線を用いて、極めて微弱なX線吸収に伴う発熱を初めて捉える事に成功した⁹⁾(図6)。そして、そのスペクトルに、EXAFSという物質の中心原子と隣接原子間距離を与える微細な振動構造が乗っている事も発見した¹⁰⁾(図7)。X線は物質の透過性が良く、光音響法の、どのような状態でも、しかも原子構造の情報まで、しかも、表面下の構造も非破壊で解析できるという可能性を持つ。しかし、問題は、信号が微弱で、ノイズに隠れてしまいがちな点であった。現在次世代放射光施設 SPring-8が完成しており、その高輝度なX線で実験すれば、物質内部まで見えるかも知れない、しかし、金属イオンなど無機分析が中心である。以上様々な光音響法の製剤解析への可能性を議論する。

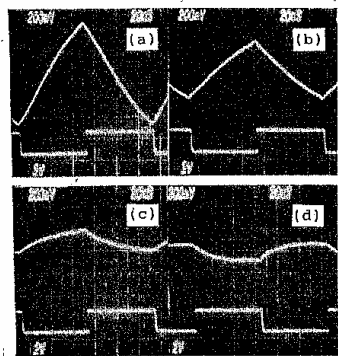


図6 X線光音響効果の発見
(a;Cu;b;Pb,c;紙;d;air)

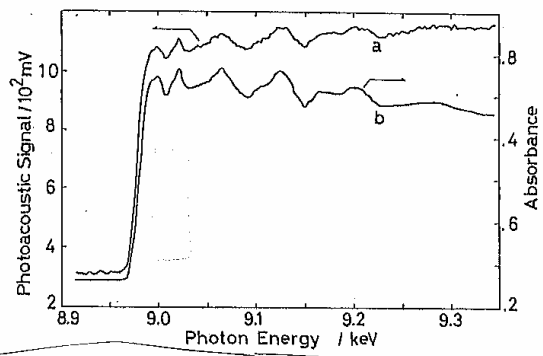


図7 光音響EXAFS (試料はCu箔5 μ m)

参考文献

- 1) A. G. Bell, *Am. J. Sci.*, **20**, 305(1880).
- 2) a) A. Rosencwaig, "Photoacoustics and Photoacoustic Spectroscopy", John Wiley and Sons, Inc., New York, 1980.
b) 澤田嗣郎編, "光音響分光法とその応用 -PAS-", 学会出版センター, 東京, 1982.
- 3) E. M. Eyring, S. J. Komowski and T. Masujima, "Analytical Instrumentation Handbook", Ed. by G. Ewing, Marcel Dekker Inc., NY, 1990.
- 4) M. J. Low and G. A. Parodi, *Infrared. Phys*, **20**, 333 (1980).
- 5) P. Poulet, D. Cahen, S. Malkin, *Biochim. Biophys. Acta*, **724**, 433(1983).
A. Yamagishi, S. Katoh, *ibid.*, **766**, 215(1984).
- 6) K. Wada, T. Masujima, H. Yoshida, T. Murakami, N. Yata, H. Imai, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 1688(1986).
- 7) T. Masujima, Y. Munekane, C. Kawai, H. Yoshida, H. Imai, L. Juing-Yi, Y. Sato, *Photoacoustics and Photothermal Phenomena*, Springer Series in Optical Sciences, Vol.58, 558 (1988).
- 8) 升島 努、菅坂みゆき、吉田久信、西澤誠治、藤平志郎、分析化学会第 36年会要旨集(1987)。
- 9) T. Masujima, H. Kawata, Y. Amemiya, M. Anndo et al., *Chem. Lett.*, **1987**, 973.
- 10) T. Masujima, "Topics in Current Chemistry", Vol.147, p.147, Ed. by E. Mandelkow, Springer-Verlag, Berlin (1988).

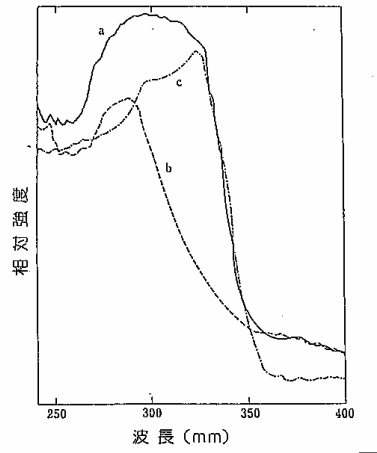


図4 サンスクリーンの効果 (a;上皮+サンスクリーン、 b;上皮、 c;a-b

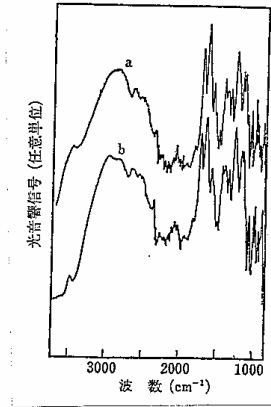


図5 アスピリン錠剤 (a)および錠剤から抽出したアセチルサルチル酸 (b)

5. レーザー光音響法

レーザーの強い光は、信号を高くし、高感度な分析ができる。しかも、それを集光して一点に集めると、光強度はそれだけ上昇し、その分、微小域での分子数の減少を補うので、微小域でも信号は落ちず高感度分析ができる。こうして集光したレーザー光をX-Y走査することで顕微下の生体像を捉える事ができる。図3では、ラット眼球切片を、酸性ムコ多糖を特異的に染色するアルシアンブルーで染色したもので、そのイメージが光音響信号の強度をz軸方向に示されている。酸性ムコ多糖の多い水晶体周囲などが高い信号を示し、その部分含量の高さを反映した分布像が捉えられている。ミクロな領域での検量線を得て置くことと微小域(40 μ m直径)で、この眼球内では、高いところで300-600pg、全量で1.5 μ gの色素が存在することが分かった⁶⁾。しかし、色素では、その選択性が弱く測定対象があいまいである。そこで、更に選択性を上げるために、酵素染色法によるイムノアッセイを適用して、微小域の定量と、組織のイメージングを行った。その結果は、講演中スライドで報告する⁷⁾。ヒトL鎖0.1-100pgのS字型の顕微下検量線から、微小域の量のみならず、ヒト胎児脾臓、膵臓の全量を計測することもできるようになった。

6. FT-IR光音響法

赤外域は、分子の同定につながる振動スペクトルが得られる。赤外域でのスペクトルを効率よく捉えるには、赤外光源を干渉光学系に取り入れ、可動鏡でその干渉光を経時スペクトルに変換し、そこで得られたスペクトルをフーリエ変換する事で横軸波長のスペクトルを捉えるFT-IR法が強く高感度分析ができる³⁾。これは光音響検出も簡単に出来、そこでは、試料室に入れば、石ころでも何でもそのまま測定できるという特徴がある。我々は、更に、その干渉光を顕微光学系で、セルの中の一点に集光して、様々な微小域をそのまま捉えることに成功した。髪の毛一本もそのまま、そして、胆石の中央部分から段々成長して行く過程の成分の違いなどを追跡した⁸⁾。その結果もスライドで示す。FT-IR光音響法は、製剤解析には特に有望な手法と言えよう。特に、剤形そのままでの化学同定や表面の化学変化の追跡などには大きな力を発揮すると考えられる。