

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成25年 5月29日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2011～2012

課題番号：23658209

研究課題名（和文） テラヘルツ波分光法による水溶液の分光分析

研究課題名（英文） Analysis of aqueous solutions by terahertz spectroscopy

 研究代表者 小川 雄一 (OGAWA YUICHI)
 京都大学大学院・農学研究科・准教授

研究者番号：20373285

研究成果の概要（和文）：テラヘルツ帯の分光情報を食品分析に利用するために、水溶液の分光分析を行なった。その結果、単純な水溶液の吸収スペクトルに解析手法を導入することで、定量分析が可能となることを示した。また、高分子の溶質と水分子の水和性の変化をモニタリングすることに成功した。さらに、シリコンロッドを用いた新たな分光法の可能性について検討し、溶質による変化を計測するには、温度補正が必要となると考えられた。

研究成果の概要（英文）：In order to find a practical application of terahertz spectroscopy, we conducted a spectral analysis of the aqueous solution. We could confirm that analytical method such as chemometrix is beneficial technique to estimate concentration of solute in a simple aqueous solution. It was also successful in monitoring the change in hydration of the polymer and water molecules. Additionally, we concluded when measuring the change of the solute in spectroscopy with a silicon rod, we need temperature correction method.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農業工学・農業情報工学

キーワード：非破壊計測、テラヘルツ波、分光

1. 研究開始当初の背景

未開拓領域として注目されている、テラヘルツ (THz) 波の電磁波周波数領域では、水素結合のような分子間力を形成するエネルギーに相当する分光情報が得られるため、例えば水分子と溶質との相互作用や高次構造を形成しているタンパク質のコンフォメーション変化に関する情報が直接観測できると考えられている。このような従来の分光法とは異なる情報は、ライフサイエンスのみならず農産物や食品の分析にブレイクスルーをもたらす可能性を秘めているため、THz 波帯における水溶液の分光学的な理解は極めて重要である。しかし、この帯域で水溶液を分光するには、水が持つ大きな吸収により光

路長が数十 μm 程度の透過セルを使う事となり、十分な光路長を得ることが困難である。そこで、中赤外分光法でも用いられている全反射減衰分光法 (ATR 法) の技術を THz-TDS に導入した研究も報告されている。しかし、プリズム内で全反射している場所の分光情報しか得ることができないため、水溶液中での物質による僅かな吸収変化を感度良く計測するにはさらに感度を求められる場合が予想される。我々は、高抵抗シリコンのロッドを導波路 (以降、シリコンロッドと記す) とし、その中を最低次モードで伝搬した THz 波によって、エバネッセント波が浸み出す現象を利用した計測法を提案している。本手法ではシリコンロッドの全周でエバネッセン

ト波を作り出すことができるため、物質との相互作用長を長くとることができ、水溶液中の僅かな吸収変化を感度よく捉えることが可能となると期待される。

本研究では、ATR法で得た吸収スペクトルにケモメトリックスなどの解析手法を導入することで、農業工学上有益な情報が得られるかどうかと共に、シリコンロッドを用いた新たな分光法の可能性について検討することとした。

2. 研究の目的

本研究では、THz帯のATR法による水溶液の分光分析を試みる。特に近赤外分光法で利用されているケモメトリックスを導入し、THz波分光法の溶質成分の状態変化や定量評価の可能性を明らかにする。さらにシリコンロッドを導波路とした分光システムを開発し、水溶液サンプルのTHz帯の分光分析を試みる。

3. 研究の方法

(1) ケモメトリックスによる糖・アスコルビン酸水溶液の定量性評価

蒸留水にグルコースおよびL-アスコルビン酸を溶解した濃度の異なる水溶液をそれぞれ作成し、グルコースは50サンプルのうち、30サンプルをキャリブレーション用、残りの20サンプルをバリデーション用として定量性を評価した(表1)。55サンプルのL-アスコルビン酸は、FS-PLSやiPLS、ニューラルネットワーク等による解析を行い、定量性の評価を行った。各測定は、フーリエ変換型THz波分光器を使用し、ATR法により測定した。測定部のATRプリズムには高抵抗シリコン単結晶を用いた。水蒸気によるTHz波の減衰を除去するため、サンプル滴下後に0リングにより試料部の大気圧を保った状態で分光器筐体を150 Pa以下まで真空引きし、フーリエ変換分光法にてATR信号の測定を行った。

表1 L-アスコルビン酸実験のキャリブレーションとクロスバリデーションに供したサンプルセット

Items	Calibration and cross-validation sample set	Prediction sample set
Number of samples	35	20
Minimum value*	0	3.21
Maximum value*	21.89	21.09
Mean*	10.13	12.61
Standard deviation*	6.69	6.81
*Units	%	%

(2) 溶質構造の変化に伴うスペクトル変化

溶質にはpoly(N-isopropylacrylamide)を使用した。本高分子は分子量44000であり、約32℃を境に、親水性が変化して分子構造

が異なる。これを蒸留水に溶解し、10 wt%の水溶液を得た。親水性変化による水素結合に伴う分子間振動による吸収(ATR信号)に注目するため、測定の条件としてスペクトルの測定範囲は180-120 cm⁻¹、積算回数は200回、分解能は16 cm⁻¹とした。再現性を確認するために1サンプルにつき5回測定を行い、その平均スペクトルをサンプルの吸光度とした。計測中に温度変化が±1℃以下となるようにプリズム温度を制御した。サンプルの設定温度は、25から50℃までとし、それぞれの温度で測定した参照信号をリファレンスとしてそれぞれの温度での測定に供した。

(3) シリコンロッド光学系によるスペクトル測定

本研究のためにグローバール光源であるセラミックヒーターを用いた分光器用の光源を作製した。シリコンロッドにカップリングするためにはビーム形状を円形に成形する必要があり、そのために光源部に集光部とアパーチャーを設けている。アパーチャー径は2.5、3、3.5、4、4.5、5、6 mmに設定可能である。干渉計におけるビームスプリッターには光学調整には可視光に透過性のあるマイラー(4 μm)を用いており、移動鏡、固定鏡にはビームの形状が変化しにくい中空リトロフレクターを用いた。検出部には室温での測定が可能な焦電素子(DTGS)を用いた。

4. 研究成果

(1) ケモメトリックスによる糖・アスコルビン酸水溶液の定量性評価

濃度の異なる55サンプルのL-アスコルビン酸水溶液について、20 cm⁻¹から400 cm⁻¹までの全帯域を用いた最小二乗回帰分析(FS-PLS)によって、L-アスコルビン酸の定量性評価モデルを構築したところ、平均二乗誤差(RMSEP)が2.791%で、残留予測偏差(RPD)

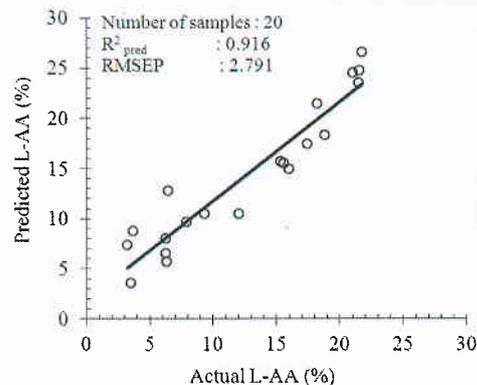


図1 予測値と実測値の比較結果(キャリブレーションモデルの作成には、前処理として一次微分波形にSavitzky-Golay法を供した)

が 4.48 という結果を得た。(図 1)

THz 帯の分子間相互作用を中心とした分光情報は、溶質分子や水分子など様々な分子間で形成される非線形性を含むことが考えられる。また、テラヘルツ帯のエネルギーが熱雑音と同程度であることから、分光システムが持つ温度揺らぎや分光器の筐体内に存在する吸収影響の大きい水蒸気等、数多くの不確定要因が考えられる。そこで誤差逆伝播法を用いたニューラルネットワークを L-アスコルビン酸の定量評価に用いることを提案し、PLS 回帰分析と主成分分析 (PCA) の結果から得られたそれぞれのスコア値で決定した 2 種類のニューラルネットワーク (LV-ANN および PC-ANN) モデルの構築を行った。濃度の異なる 33 サンプルをキャリブレーションに、11 サンプルをバリデーションに供し、1 つの中間層を含む 3 層から成るニューラルネットワークにおいて 11 サンプルを用いて L-アスコルビン酸の濃度推定を行った。その結果、最も良好なネットワークは、PC-ANN では 7 つの入力数に対して 6 つの中間層数を構築した場合、推定精度 RPD が 6.01 のものであった。一方、LV-ANN では 9 個の入力数に対して 6 つの中間層数を構築した場合、推定精度 RPD が 6.44 となり、PC-ANN に比べて入力数が多いものの、こちらの非線形モデルでも L-アスコルビン酸量の推定が可能であった。(表 2)

表 2 階層構造の異なる LV-ANN の結果比較

Network structure	Calibration set		Validation set		Prediction set	
	R ²	RMSE	R ²	RMSE	R ²	RMSE
9-1-1	0.969	1.2611	0.971	1.4915	0.957	1.3159
9-2-1	0.982	0.9073	0.952	1.3378	0.976	1.2512
9-3-1	0.989	0.7105	0.977	0.9909	0.973	1.2446
9-4-1	0.971	1.1669	0.866	2.1543	0.974	1.1985
9-5-1	0.934	1.8162	0.975	1.0000	0.973	1.2886
9-6-1	0.984	1.0024	0.832	2.0239	0.976	1.0436
9-7-1	0.986	0.9686	0.859	2.4908	0.946	1.5030
9-8-1	0.985	1.0269	0.957	1.3961	0.967	1.2109
9-9-1	0.990	0.7757	0.886	2.6014	0.973	1.3107
9-10-1	0.993	0.7101	0.967	1.6786	0.940	1.3123

(2) 溶質構造の変化に伴うスペクトル変化
 サンプルの温度を上げると、32 度を境にスペクトルの構造が変化する様子が確認された。そこで、水素結合の伸縮振動に対応する 166 cm⁻¹ の吸収変化と、62 cm⁻¹ の水の配向運動や水素結合によらない水分子同士の衝突エネルギーに対応した速い誘電緩和による吸収変化をまとめたものを図 3 に示す。

水のスペクトルは、温度の上昇と共に吸収が増加する事が知られている。一方でこのサンプルの吸収は、LCST を境に減少する傾向が見られた。MD シミュレーション結果によると poly(N-isopropylacrylamide) の疎水化により水-ポリマーの相互作用は減少し、ポリマー-ポリマーの相互作用が増加することが示

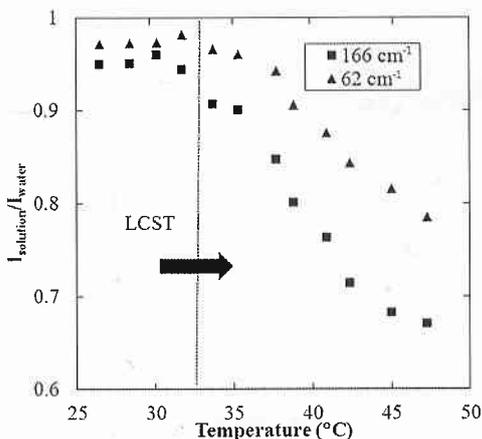


図 3 予測値と実測値の比較結果 (キャリブレーションモデルの作成には、前処理として一次微分波形に Savitzky-Golay 法を供した)

唆されている。つまりこの結果は、温度上昇によって構造が変化し、水分子の親和性が極端に変化したために水のネットワークの構造そのものが変化した事を示唆する結果と考えられる。このことは、水溶液中のタンパク質等の構造変化を水分子の変化として捉えて評価できる事を示しており、タンパク質の酵素反応のモニタリングなど、食品や医薬品等の検査等に利用できることが期待される。

(3) シリコンロッド光学系によるスペクトル測定

図 4 のようなシリコンロッド (直径 2 mm、長さ 50 mm) を分光器に配置し、ロッド周辺を純水で満たし、水によるロッドを透過する信号強度の変化を測定した。まず、ロッド全周でエバネッセント波が発生する EH₁₁ モードで伝搬しているかを確認するために、ロッド透過後のビームプロファイルを取得した。次にロッド全周を水で満たすことで水の吸収情報を取得した。ロッドの周囲が空気と水の場合をそれぞれ DTGS から出力された電圧値で比較を行なった。

ロッド透過後 2 mm の位置でナイフエッジ法によりビームプロファイルを取得した。

(図 5) ビームの形状はガウシアンカーブに類似しているため TEM₀₀ モードであることが示唆された。このため、ロッド中の伝搬モードが EH₁₁ モードとなり、ロッド全周にエバネッセント波が発生していると考えられる。

次に、光源ユニット内のアパーチャー径を変化させ、それぞれにおけるシリコンロッドのエバネッセント波を用いた水の吸収測定結果を示す。表 3 に空気と水の測定時に DTGS から出力される電圧値を計測し、水の有無による信号の減衰率を求めた。

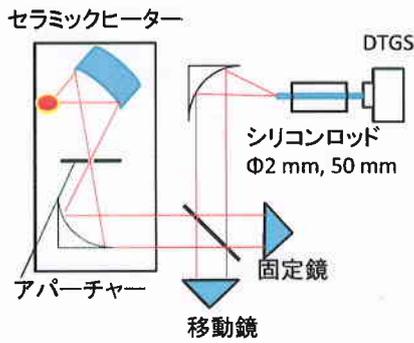


図4 シリコンロッドを使った分光装置の実験系

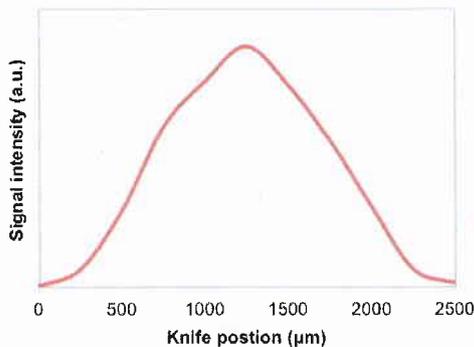


図5 ナイフエッジ法で測定したロッド透過 2 mm でのビームプロファイル (光源ユニットのアパーチャー径は 2.5 mm)

ロッド径が 2 mm であることに対して、最大の減衰率を示すのはアパーチャー径が 3 mm の時であった。アパーチャー径が 2.5 mm の時、集光径が 1.5 mm であることから、本実験における集光径は 1.8 mm 程度と試算され、ロッド径とカップリング時のビーム径が同程度である時に効果的にエバネッセント波が発生していることが示唆された。ただし、サンプル温度による影響でシリコンロッドの屈折率が変化し、伝播モードにも影響を与えていることが確認されたため、温度を考慮した測定方法の提案が必要であることが分かった。

表3 水の有無による DTGS 出力値の減衰率

アパーチャー径 (mm)	空気 (mV)	水 (mV)	減衰率 (%)
6	566	564	0.35
5	555	550	0.90
4.5	542	539	0.55
4	518	516	0.39
3.5	478	476	0.42
3	412	408	0.97
2.5	322	320	0.62

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

1. K. Shiraga, Y. Ogawa, N. Kondo, A. Irisawa, M. Imamura, "Evaluation of the hydration state of saccharides using terahertz time-domain attenuated total reflection spectroscopy," Food chemistry, 140, 315 – 320 (2013), 査読有
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.02.066>
2. H. Naito, Y. Ogawa, H. Hoshina, S. Sultana and N. Kondo: Analysis of Intermolecular Interaction of Poly (N-isopropylacrylamide) Solution with Attenuated Total Reflectance Terahertz Spectroscopy, Applied Physics Letters, 100, 191102 (2012). 査読有
<http://dx.doi.org/10.1063/1.4711804>
3. D. Suhandy, M. Yulia, Y. Ogawa, N. Kondo, " L-Ascorbic Acid Prediction in Aqueous Solution Based on FTIR-ATR Terahertz Spectroscopy," Engineering in Agriculture, Environment and Food, Vol. 5 (2012) No. 4, 152-158, 査読有
4. D. Suhandy, T. Suzuki, Y. Ogawa, N. Kondo, H. Naito, T. Ishihara, Y. Takemoto, W. Liu, "A Quantitative Study for Determination of Glucose Concentration Using Attenuated Total Reflectance Terahertz (ATR-THz) Spectroscopy," Engineering in Agriculture, Environment and Food, Vol. 5 (2012) No. 3, 90-95, 査読有
5. D. Suhandy, M. Yulia, Y. Ogawa, and N. Kondo, "Prediction of Vitamin C Using FTIR-ATR Terahertz Spectroscopy Combined with Interval Partial Least Squares (iPLS) Regression," SII (Systems Integration International) 2011, IEEE/SICE , Kyoto Univ., 2011/12/20, 査読無

[学会発表] (計 4 件)

1. H. Naito, Y. Ogawa, S. Sultana, N. Kondo, "Monitoring Phase-change of Poly (N-isopropylacrylamide) with Attenuated Total Reflectance Terahertz Spectroscopy," 3rd EOS Topical Meeting on Terahertz Science & Technology, Kaiserstejnsky Palace, Prague, Czech Republic, 2012/06/19
2. D. Suhandy, M. Yulia, Y. Ogawa, N. Kondo, "Vitamin C Determination Using

小川雄一 (OGAWA YUICHI)
京都大学・大学院農学研究科・准教授
研究者番号：20373285

- FTIR ATR Mid Infrared Spectroscopy Using Full Spectrum PLS Regression with Different Spectral Pre-processing Methods," The 6th International Symposium on Machinery and Mechatronics for Agricultural and Biosystems Engineering (ISMAB) 2012, Chonbuk National University, Jeonju, Korea, 2012/06/18
3. D. Suhandy, M. Yulia, Y. Ogawa, N. Kondo, "Determination of Vitamin C in Terahertz Region Using Principal Component Artificial Neural Networks," 農業機械学会関西支部第128回例会, 鳥取大学, 2012/08/12
 4. M. Yulia, D. Suhandy, Y. Ogawa, N. Kondo, "Quantitative and Qualitative Study of Pyridoxine Hydrochloride and L-Ascorbic Acid (LAA) in Aqueous Solution Using FTIR-ATR Mid Infrared Spectroscopy with Full PLS Regression," 農業機械学会関西支部第128回例会, 鳥取大学, 2012/08/12
 - 5.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等
なし

6. 研究組織
(1) 研究代表者