

FTIR

TALK LETTER

Vol. 32
April 2019



蹴上インクラインの桜、古都の景観を背景に咲く桜は格別の風情が漂う。

シリカ固定化Pd 錯体触媒によるアリル化反応と
FTIRによるアリルアルコール活性化機構解明 …… P. 2

適格性評価の電子文書化 …… P. 6

様々なATR測定装置のご紹介 その1 …… P. 10

Q&A 1720 cm^{-1} 付近に小さなピークが見えますが、
これは何に由来していますか? …… P. 13

分光光度計のデータインテグリティ強化 …… P. 14

シリカ固定化Pd錯体触媒による アリル化反応とFTIRによる アリルアルコール活性化機構解明



東京工業大学物質理工学院 准教授 / 科学技術振興機構さきがけ 研究者
本倉 健

1. はじめに

求核剤のアリル化反応 (Eq. 1) は、別名「辻-トロスト反応」とも呼ばれ、得られるアリル化生成物が種々のファインケミカルズへと変換できるため、合成化学において極めて有用な反応である¹⁻⁵⁾。この反応はPd触媒によって進行することが知られており、アリル化剤としてはアリルメチルカーボネート、ハロゲン化アリル、酢酸アリル等が用いられている。これらのアリル化剤は反応性が高いものの、脱離基 (X) に由来する副生成物が、目的のアリル化生成物と当量以上生成する点に問題を抱えている (図1)。そこで、これらのアリル化剤に代えてア

リルアルコールを用いることができれば、副生成物が水のみで環境調和型合成法となる (図1)^{6,7)}。さらに、従来のアリル化剤はアリルアルコールを原料として合成されているため、アリルアルコールを直接アリル化反応に用いることは、プロセス全体の簡略化にもつながる。しかしながら、アリルアルコールの水酸基 (OH基) は脱離基としての反応性が極めて低いため、アリルアルコールをアリル化剤としてこの反応を効率よく進行させることのできる新たなPd触媒の開発が切望されていた。

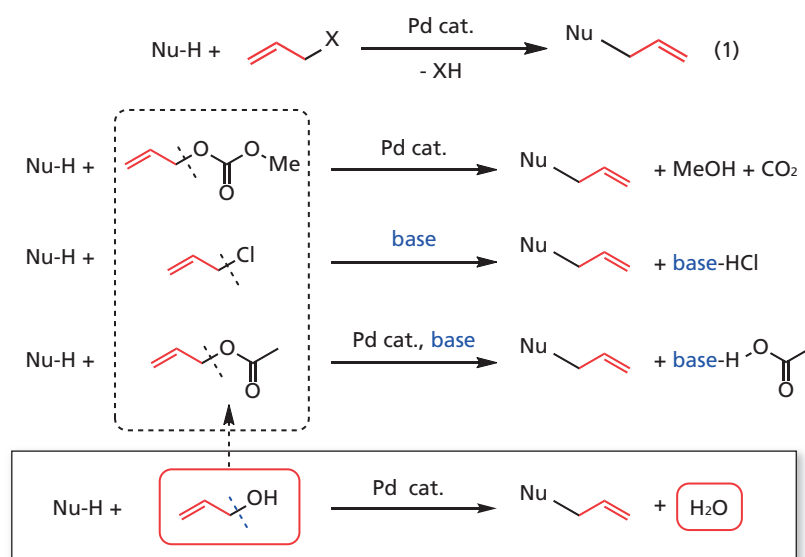


図1 アリルメチルカーボネート、塩化アリル、酢酸アリルを用いるアリル化反応とアリルアルコールを用いるアリル化反応の副生成物比較

リルアルコールを活性化しアリル化反応における活性中間体 (π -アリルパラジウム) へ導くには、弱酸性の共触媒部位へOH基を求電子的に配位させ、C-O結合の開裂を促す必要がある⁸⁻¹¹⁾。そこで本研究では、シリカ表面へPd錯体を固定することによって、シリカ表面のシラノール基 (Si-OH基) に

よるアリルアルコールOH基の活性化と、これに続くPd錯体との反応による π -アリルパラジウム中間体形成の促進を試みた (図2)^{12,13)}。このSi-OH基によるアリルアルコール活性化の過程を、*in-situ* FTIR観測によって捉えることに成功した¹³⁾。

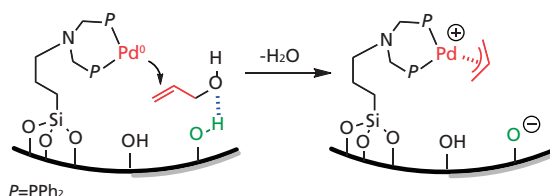


図2 シリカ固定化Pd錯体と表面Si-OH基の協奏効果によるアリルアルコールの活性化

2. メソポーラスシリカ固定化Pd錯体触媒の調製・構造解析

メソポーラスシリカ (MS) を担体とし、Pdジホスフィン錯体 (PP-Pd) をシランカップリング反応によって担体表面に固定した (図3)。固定化後のPd錯体の構造維持は固体 ^{13}C および

^{31}P MAS NMR、Pd K-edge XAFS および元素分析測定によって確認し、Pd錯体がメソ細孔へ均一に分散していることをSEM-EDX分析によって確認した。

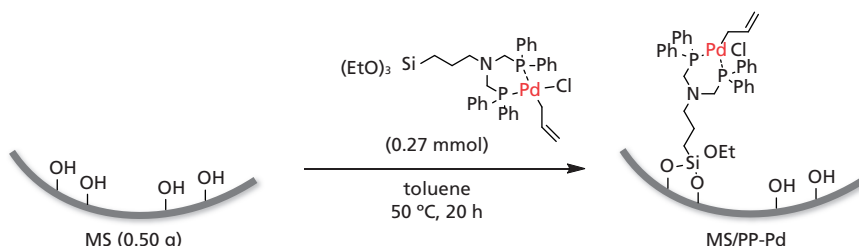


図3 メソポーラスシリカ固定化Pd錯体の合成経路

3. メソポーラスシリカ固定化Pd錯体によるアリル化反応

図4に種々のPd触媒を用いる求核剤 (1) のアリルアルコールによるアリル化反応の結果をまとめる。MS/PP-Pdを用いると、アリル化体生成における触媒回転数 (TON) 87で目的の生成物が得られた。一方、MS担体を事前に焼成し表面Si-OH基量を減少させた場合 (MS(cal)/PP-Pd) や、他のシランカップリング剤との反応でSi-OH基を除去した触媒 (MS/PP-Pd-cap) では、生成物収率・同一反応時間でのTONの顕著な減少が確認された。加えて、触媒前駆体であるPP-Pdのみを反応に用いると、TON=10と触媒活性は極端に低下した。以上の結果は、

担体の表面のSi-OH基の存在によってアリル化反応が促進されている可能性が高いことを示している。基質/触媒比や溶媒の有無、添加塩基の種類など、反応条件を最適化することによって、MS/PP-Pd触媒を用いる反応におけるPd基準のTONは最高で4500に達した (収率74%)。この値は、これまでに報告されている触媒系と比較して極めて高く、メソポーラスシリカ固定化Pd錯体が、アリルアルコールを用いるアリル化反応における有効な触媒であることを示している。

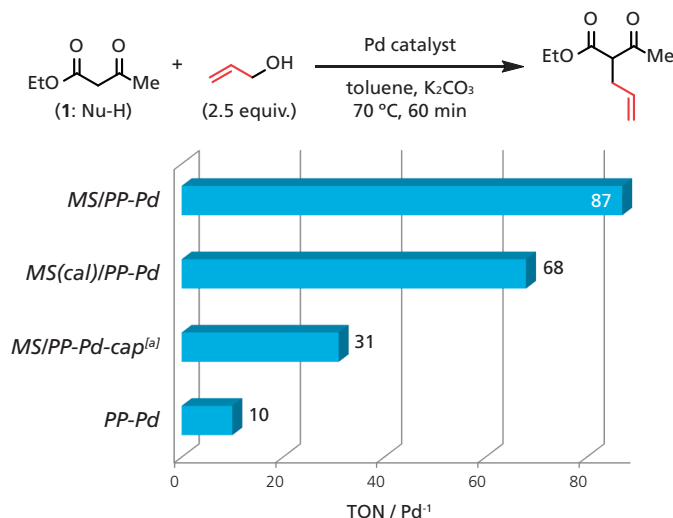


図4 種々のPd触媒を用いた際のアリル化反応における触媒活性比較 [a] MS表面のSi-OH基をSiMe(OMe)₃との反応により部分的に除去

MS担体表面のSi-OHとアリルアルコールとの相互作用を確認するため、まずMSにアリルアルコールを吸着させた状態で固体¹³C MAS NMR測定を行った。結果を図5に示す。64 (C1) および137 ppm (C3) に観測されるフリーのアリルアルコールに由来するシャープなピークに加えて、66 (C1') および136 ppm (C3') にMSに吸着したアリルアルコールに由来するブロードな信号が観測された。次に、実際の触媒 (MS/PP-Pd) とアリルアルコールとの相互作用を観測するため *in-situ* FTIR測定を行った。図6には気相のアリルアルコール分圧を徐々に増加させながら測定したFTIRスペクトルから、アリルアルコール吸着前のMS/PP-Pdのスペクトルを差し引いた差スペクトルを示す。アリルアルコール気相分圧の増加に従って、Si-OHのO-H伸縮振動に由来する3700 cm⁻¹付近に負のピークが現れた。加えて、新たに生成した水素結合と思われる3200-3300 cm⁻¹と、アリルアルコールのC-H伸縮振動による2900-3100

cm⁻¹、C-H変角振動に由来する1370および1425 cm⁻¹に正のピークが観測された。これらの結果は、導入されたアリルアルコールの一部がMS/PP-Pdの担体表面のSi-OH基に吸着していることを明確に示している。アリルアルコールの吸着を確認後、FTIRセルにもう一方の反応分子である求核剤 (1) と塩基を加え、80 °Cで加熱後、固体サンプルを回収・トルエンで有機物を抽出し溶液をGC-MSにて分析したところ、目的のアリル化体が生成していることを確認した。この結果は、MS表面に吸着したアリルアルコールが反応中間体となることを示しており、Si-OHによるアリルアルコールの活性化によるアリル化反応の促進を支持している。以上の結果と、反応後の触媒のPd K-edge XAFS測定等から、固定化Pd錯体と担体表面のSi-OH基の協奏的なアリルアルコール活性化によるπ-アリルパラジウム中間体の生成を経由する図7に示す反応機構を提案している。

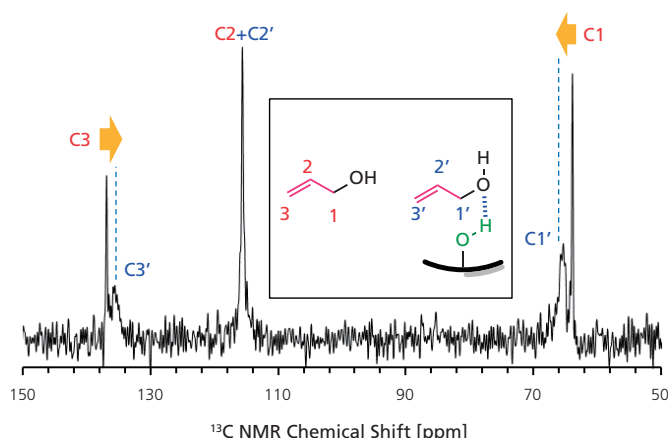


図5 アリルアルコールを吸着させたMSの固体¹³C CP/MAS NMRスペクトル

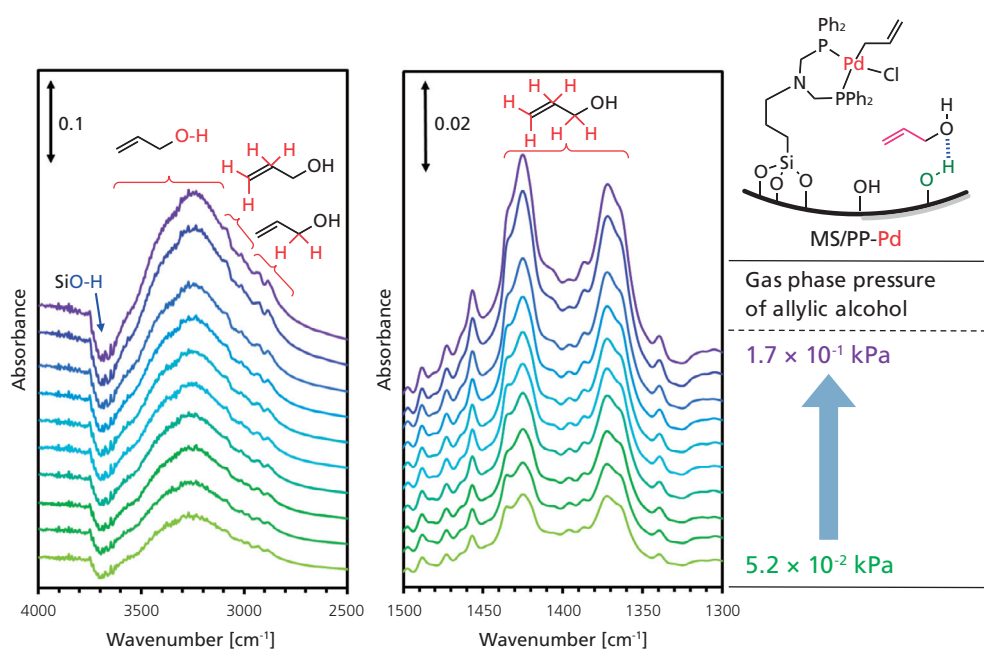


図6 MS/PP-Pd触媒へのアリルアルコール吸着FTIRスペクトル

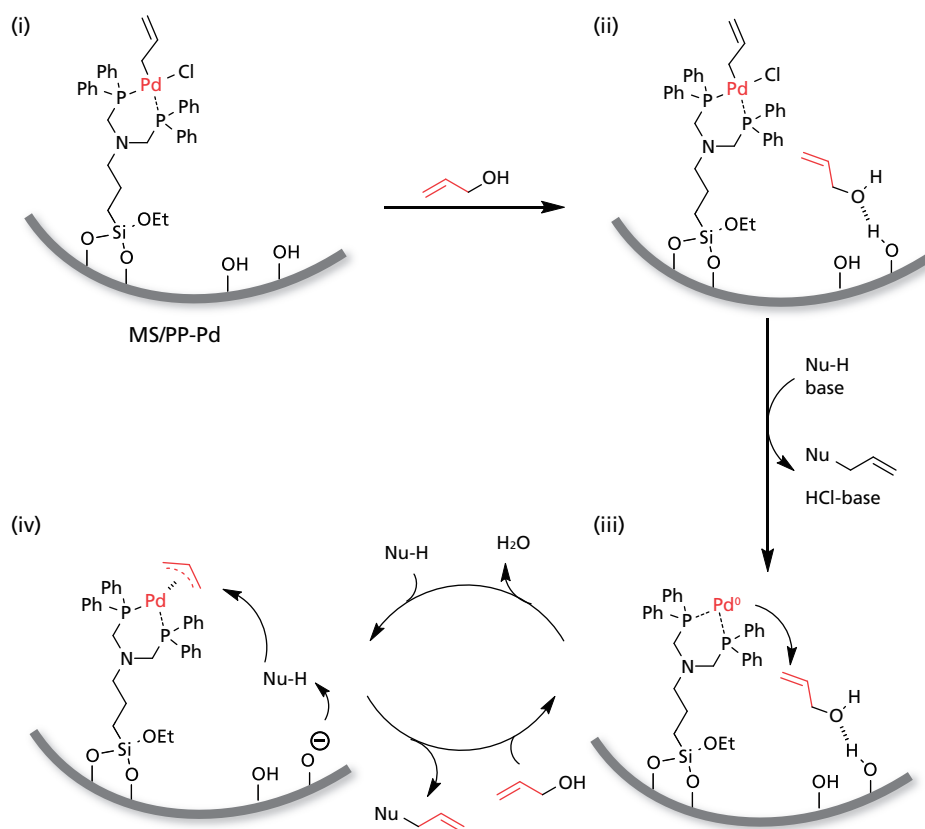


図7 MS/PP-Pd触媒によるアリルアルコールの活性化を経由するアリル化反応機構

4. まとめ

メソポーラスシリカ固定化Pd錯体がアリルアルコールをアリル化剤とする環境調和型アリル化反応に極めて高い活性を示すことを見出した。Pd錯体と表面Si-OH基との協奏的なアリルアルコールの活性化によって、反応性の低いアリルアルコールを用いても本触媒系では反応が効率よく進行する。Si-OH基によるアリルアルコールの活性化の過程を*in-situ* FTIR測定によって明らかにすることができた。固体表面において特異的に形成される活性点ペアを活用することで、これまで難しいとされてきた触媒反応の促進が可能であり、それらの反応過程をFTIRを始めとする種々の分光学的手法を用いて観測・理解することで、さらなる高性能触媒の設計へと展開していく。

謝辞

本稿で紹介した研究成果は、池田まりか氏、南保雅之氏（東京工業大学物質理工学院）、Kim Minjune博士、中島清隆准教授（北海道大学触媒科学研究所）の協力のもとに得られました。心より感謝申し上げます。

参考文献

- 1) J. Tsuji, H. Takahashi, M. Morikawa, *Tetrahedron Lett.*, 1965, 6, 4387.
- 2) B. M. Trost, T. J. Fullerton, *J. Am. Chem. Soc.*, 1973, 95, 292.
- 3) B. M. Trost, D. L. Van Vranken, *Chem. Rev.*, 1996, 96, 395.
- 4) J. Tsuji, *Transition Metal Reagents and Catalysts*, Wiley, New York, 2000.
- 5) J. Tsuji, *Palladium Reagents and Catalysts*, Wiley, Chichester, 2004.
- 6) B. Sundararaju, M. Achard, C. Bruneau, *Chem. Soc. Rev.*, 2012, 41, 4467.
- 7) N. A. Butta, W. Zhang, *Chem. Soc. Rev.*, 2015, 44, 7929.
- 8) F. Ozawa, H. Okamoto, S. Kawagishi, S. Yamamoto, T. Minami, M. Yoshifuji, *J. Am. Chem. Soc.*, 2002, 124, 10968.
- 9) H. Kinoshita, H. Shinokubo, K. Oshima, *Org. Lett.*, 2004, 6, 4085.
- 10) I. Usui, S. Schmidt, B. Breit, *Org. Lett.*, 2009, 11, 1453.
- 11) G. Jiang, B. List, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2011, 50, 9471.
- 12) K. Motokura, M. Ikeda, M. Nambo, W.-J. Chun, K. Nakajima, S. Tanaka, *ChemCatChem*, 2017, 9, 2624.
- 13) K. Motokura, M. Ikeda, M. Kim, K. Nakajima, S. Kawashima, M. Nambo, W.-J. Chun, S. Tanaka, *ChemCatChem*, 2018, 10, 4536.

適格性評価の電子文書化

分析計測事業部 スペクトロビジネスユニット

田尾 知世

島津製作所ではIQ/OQ文書の電子化（電子化適格性評価文書作成サービス）の機種展開を進めており、HPLC、GC、TOC、UV機種に続き、FTIR機種でも電子化サービスの提供を開始いたしました。そこで今回はバリデーションにおける適格性評価の関連性にくわえて、これまでの紙文書による適格性評価サービスからの変更内容とともに電子化適格性評価文書作成サービスの特長についてご紹介します。

1. バリデーションとは

CSV（コンピュータ・システム・バリデーション）やPIC/S GMP、21 CFR Part 11、ER/ES規制など、近年製造企業に求められる規制対応は急激に増加し、その規制内容も年々厳しさを増しています。FTIR TALK LETTER Vol. 4及びVol. 27でFTIRのバリデーションについてお伝えしてきましたが、「バリデーション」はこれらの規制に対応しているかどうかを明示する手段の一つといえます。

厚生労働省は「バリデーション」について、『製造所の構造設備並びに手順、工程その他の製造管理及び品質管理の方法（以下「製造手順等」という。）が期待される結果を与えることを検証し、これを文書とすることをいう。』と定義しています。つまり、バリデーションでは製造管理及び品質管理の方法に対して、

- ① 期待される結果をあらかじめ決定しておき、
 - ② ①の結果が得られるかを検証し、
 - ③ ①、②を文書化する
- ことが求められています。

2. バリデーションと適格性評価の関連性

バリデーションとIQ（Installation Qualification：据付時適格性評価）やOQ（Operational Qualification：運転時適格性評価）といった適格性評価は何が異なるのでしょうか？ ICH Q7A「原薬GMPのガイドライン」では、ICHが適格性評価について以下のように定義しています。

『適格性評価とは、分析機器及びそのオプション品が適切に据え付けられ、正しく機能し、実際に期待される結果が得られることを確認し、文書化することである。適格性評価はバリデー

ションの一部であるが、IQやOQといった個々の適格性評価を実施しただけでは、プロセスバリデーションしたことにはならない。』

よって適格性評価はバリデーションの工程における一作業ということになります。

バリデーションと適格性評価の違いについてより明確にするために、バリデーションのフロー図を示したVモデルについてご紹介します（図1）。これはGAMPガイド（Good Automated Manufacturing Practice Guide：自動化製造実践規範ガイド）で紹介されており、「装置の導入」から据付後の「日常業務で装置を使い始める前」までの各プロセスに対するバリデーション作業が一連の流れとして示されています。図1をみると、各適格性評価プロセス（IQ、OQ、PQ（Performance Qualification：稼働性能適格性評価））から各々の要求仕様（DS（Design Specification：設計仕様）、FS（Functional Specification：機能仕様）、URS（User Required Specification：ユーザー要求仕様））に向かって「検証」の矢印が伸びていることがわかります。ここでの「検証」は、DS、FS、URSで要求されている項目の内容を確認する作業をいい、検証作業の結果、要求仕様を満たしているかどうかを判断することが適格性評価となります。したがって、これら一連のプロセスにおける適格性評価の結果、装置の妥当性を立証することがバリデーションであるといえます。

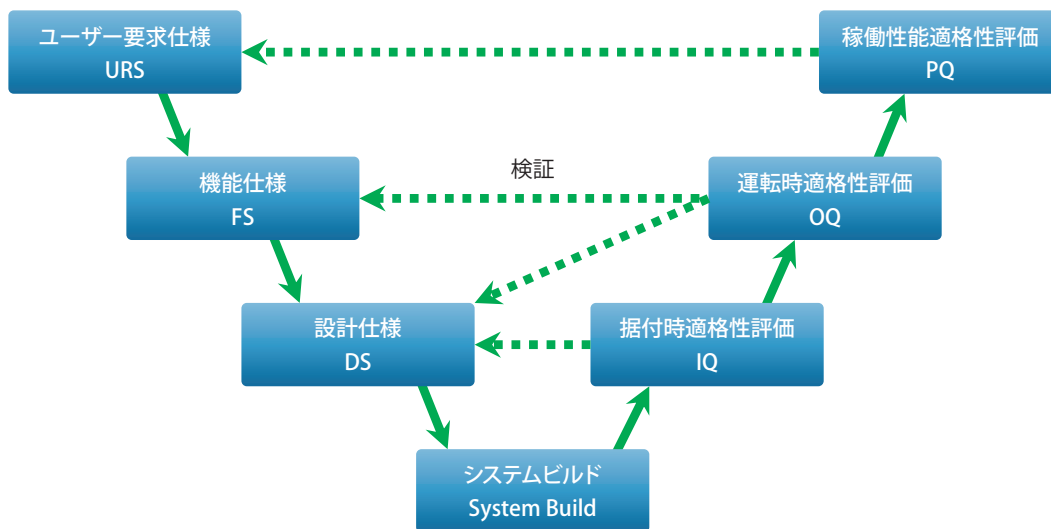


図1 GAMPのVモデル

3. 島津製作所が提供する規制対応へのサポート

バリデーションの実施は基本的に装置ユーザーであるお客様で実施することが前提となりますが、当社はISO 9001:2000 認証に基づいた品質保証体制により、CSVガイドラインやPIC/S GMP ガイドライン、およびER/ES 規制等に対応した製品を提供しており、さらに、効率的なバリデーションの実施を実現すべく、適格性評価 (IQ/OQ) 文書及び文書作成支援サービスを提供しております。

これは、適格性評価の点検整備の有資格者として当社が認定する作業員によるIQ/OQ 据付、及びPM (Preventive Maintenance: 予防的メンテナンス) /OQ 点検の実施と、適格性評価における検証実施内容、検証作業の Protokol、判定基準を明確に記載した適格性評価文書の作成サービスです。文書の作成において欠如しやすくなるのが、適格性評価において何をもって合格と判断するのか、その「基準の明確化」です。検証結果と基準を対比させることが適格性評価において重要になります。

当社ではこの基準についても詳細に明記した文書雛形を準備しておりますので、確実な評価が実施可能です。作業についても標準化されておりますので、短時間で効率的に評価を実施できます。

4. 適格性評価文書の電子化

ペーパーレス化による省資源、省スペースを目的に、当社では電子化適格性評価文書作成サービスの機種展開を進めており、FTIR 機種でも電子化サービスを開始いたしました。また、「点検手順と結果の文書が分かれているため、両者の照合作業に時間がかかる」、「お客様ごとのシステム構成に合わせた手順書になっておらず、適格性評価文書の事前確認作業が煩雑になる」といった従来の紙文書での適格性評価時に頂いておりましたご意見・ご要望を踏まえ、文書の電子化とともに文書内容や構成についてもリニューアルいたしました。電子化適格性評価文書作成サービスの特長として、以下のものが挙げられます。

- お客様システムに合わせた文書構成
- 手順書と報告書を統合
- EQP 文書による点検項目のカスタマイズ
- サマリーレポートの自動作成
- RQ 文書の追加
- 専用ソフトによる工数削減、人的ミスの減少

従来サービスとの比較を表1にまとめておりますので、合わせてご参照ください。

表1 電子化適格性評価文書作成サービスと従来サービスの比較

	電子化適格性評価文書作成サービス	従来の適格性評価文書作成サービス
報告書の最終形態	<ul style="list-style-type: none"> ● 紙文書 ● PDFファイル 	<ul style="list-style-type: none"> ● 紙文書
文書構成	<ul style="list-style-type: none"> ● お客様のシステム構成に合わせてカスタマイズ ● 手順書と報告書を統一 	<ul style="list-style-type: none"> ● 全装置情報が記載されたOQP文書 ● 手順書 (IQ/OQP) と報告書 (IQR/OQR) で構成
適格性評価の事前確認	EQP文書での確認	IQP/OQP文書での確認
点検項目のカスタマイズ	○	× (全て特注対応)
サマリーレポートの作成	○	×
適格性評価文書のラインナップ	EQP/IQ/OQ/PM/RQ/EQR	IQ/OQ/PM

5. お客様のシステム構成に合わせた文書構成

従来の適格性評価文書では、OQP文書に当社が扱うFTIR機種種の全装置情報が記載されており、お客様のシステムに関係のない、不要な装置情報についても列挙されておりました。しかし、電子化適格性評価文書では付属品も含め、お客様の装置構成に合わせて文書構成をカスタマイズしてご提供いたします (図2)。

さらに、手順書 (IQ/OQP) と報告書 (IQR/OQR) を分けてご提供しておりましたが、これらを1つに統合し、OQの点検項目ごとに手順、設定値、管理基準値、結果を記載することにより、点検手順と結果を簡便に照合できるようになりました。

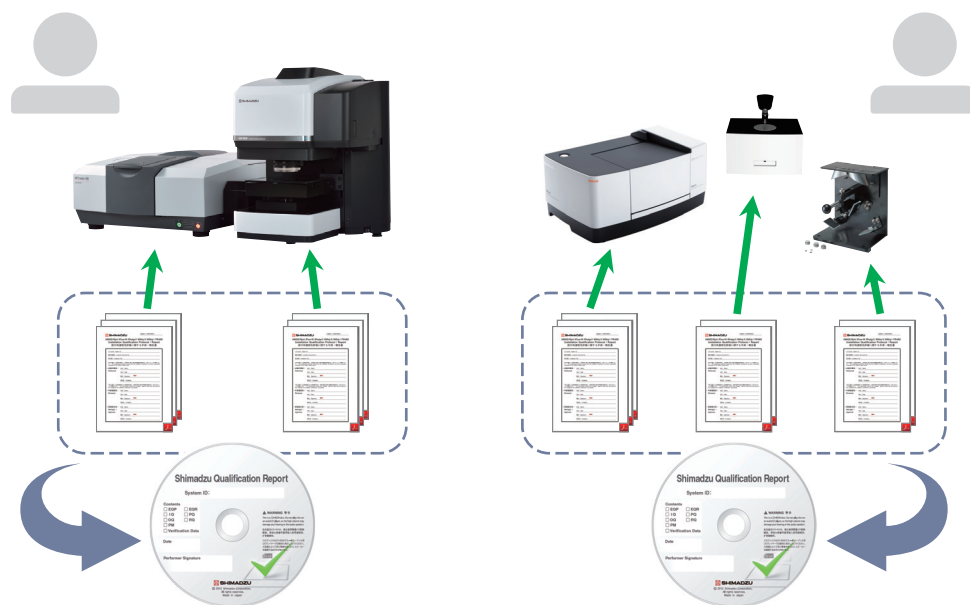


図2 お客様のシステム構成に合わせ文書をカスタマイズ

6. EQP文書による評価の事前確認

新形式ではお客様で事前にIQ/OQの実施項目の計画・確認を行うEQP (Equipment Qualification Plan: 装置適格性評価計画) 文書をご提供できるようになりました。EQP文書では一覧表形式で点検項目や管理基準を容易に確認できます。さらに点検項目ごとに点検実施の有無、管理基準値の変更 (編

集) ができ、点検内容もカスタマイズ可能となります。適格性評価の実作業時には専用ソフトウェアを用い、EQPでカスタマイズされた点検項目は自動的にIQ/OQ文書へ反映されるため、転記ミスといった人的ミスは発生しません。

7. サマリーレポート (EQR)

新形式ではIQ、OQの点検結果報告書とは別に、点検結果のサマリーレポート (EQR: Equipment Qualification Record) をご提供いたします。サマリーレポート上で、記載元IQ、OQ文書のページ番号も表示されているため、元文書も参照しやすくなっており、査察時の文書検索が非常に容易になります。サマリーレポートは適格性評価専用ソフトウェアでIQ/OQ文書作成後、自動で作成されるため作成工数はかからず、記入ミスも発生しません。

8. RQ文書による修理時適格性評価

フィールドエンジニアが装置を修理した場合、従来の形式では修理後の性能確認をOQ文書で実施していました。しかし、修理後の性能確認はOQという位置づけではなく装置の修理に対して分析結果に影響を与えるリスクを考慮した点検項目で適格性評価を実施することが好ましく、新形式ではRQ (Post Repair Re-Qualification: 装置修理後適格性評価) 文書を新たにご用意しました。

9. 薬局方バリデーション結果の自動取り込み機能

当社のFTIR装置では制御ソフトウェアに薬局方バリデーションプログラムが搭載されております。OQ点検ではこの薬局方に基づいた点検項目を採用していますので、薬局方バリデーションプログラムによる検査結果を適格性評価文書作成専用ソフトウェアに取り込むことで、検査値を自動で転記する機能を設けました。これまで点検作業者がバリデーション結果を参照して値を記入していたため、この転記機能により作業工数が削減されるとともに、記入漏れや誤記などの人的ミスも発生しません。

適格性評価文書作成サービス、どうぞご利用ください。

参考文献

- 医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令
<厚生労働省令 第179号>
- ICH Q7A 原薬GMPのガイドライン
<医薬発第1200号>
- GAMPガイド: 自動化システムのバリデーション (GAMP4)

参考資料

- GAMP JAPAN FORUM
https://www.ispe.gr.jp/ISPE/04_cop/04_07.htm

様々なATR測定装置のご紹介 その1

分析計測事業部 グローバルアプリケーション開発センター
岩崎 祥子

ATR法は、透過法と比べて前処理が不要なため、簡便に分析できることが特長です。固体や粉末サンプルの場合は、プリズムの上にサンプルを置いて、加圧クランプで押し付けて密着させることにより、液体サンプルの場合は、プリズムの上にサンプルを置くだけで、スペクトルを得ることができます。近年、プリズムに合成ダイヤモンドの使用が可能になったことや、多くの使いやすいATR装置が開発されてきたことにより、活発に使用されています¹⁾。そのような情勢の中、第十七改正日本薬局方では、一般試験法にのみ記載されていたATR法が、医薬品各条での確認試験としても記載されるようになり、ATR法の用途は、より一層広がっています。例えば、ヒプロメロース酢酸エステルコハク酸エステルはATR法が明記されている医薬品の一つで、「赤外吸収スペクトル測定法のATR法により測定するとき、波数2840 cm⁻¹、1737 cm⁻¹、1371 cm⁻¹、1231 cm⁻¹及び1049 cm⁻¹付近に吸収を認める」と定められています²⁾。

ATR測定装置の中では、1回反射ATR測定装置が主流ですが、目的に応じた各種ラインナップがあります。ここでは、一般的なATRプリズムの選択法に加え、多重反射ATR、温度制御できるATR測定装置をご紹介します。

1. プリズムとプレートの選択

近年、硬いサンプルに対応でき、測定波数範囲も広いダイヤモンドプリズムが主流になってきていますが、カーボンブラックを多く含む黒色ゴムやナノオーダーの薄膜を測定する場合には、高屈折率で潜り込み深さの浅いGeプリズムを使用することが有効です。また、ニトリル基などを有するサンプルをダイヤモンドプリズムで測定すると、2000 cm⁻¹前後にあるダイヤモンドの吸収によってピークの確認が困難になる場合があります。このような場合には、2000 cm⁻¹前後に吸収のないGeやZnSeプリズムなどを使用するとピークを確認しやすくなります。目的に応じて最適なプリズムを選択することがその後の解析のしやすさにつながります。各種プリズムにおけるATRスペクトルの詳細については、弊社Application News No. A485「各種プリズムにおけるATRスペクトルの特徴-様々な性状(形状、硬度、屈折率)のサンプルによる違い-」に記載がありますので、ご参照ください。

図1に示す1回反射ATR測定装置QATR-Sは、ダイヤモンドのほか、GeやZnSeプリズムのラインナップがあり、プリズムプレートは、ドライバーなどを使用することなく、簡単に交換できます。また、試料を押し付ける際のプリズム保護のため、クランプには、トルクリミッタを搭載しているので、安心してお使いいただけます。QATR-Sのダイヤモンドプリズムを使用して、冒頭で紹介した日本薬局方記載の「ヒプロメロース酢酸エステルコハク酸エステル」を測定しました。ATRスペクトルを

図2に示します。日本薬局方に定められている通り、波数2837 cm⁻¹、1736 cm⁻¹、1371 cm⁻¹、1231 cm⁻¹及び1048 cm⁻¹付近にピークが確認できました。



図1 1回反射ATR測定装置QATR-S

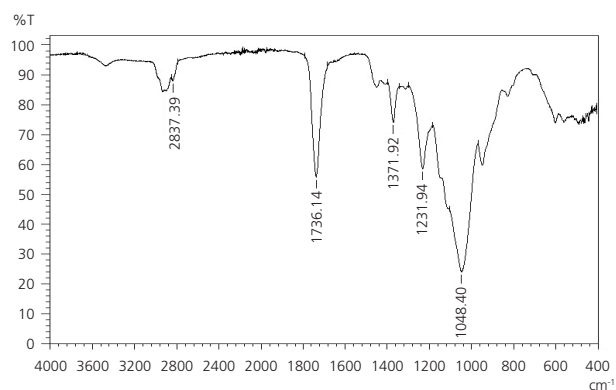


図2 ヒプロメロース酢酸エステルコハク酸エステルのATRスペクトル

腐食性サンプルを測定する場合には、プリズムだけでなく、周りの金属プレートにも配慮する必要があります。一般的に、周囲のプレートにはSUSが使用されているため、プレートの腐食に注意が必要です。強酸性サンプルなどを測定する場合は、ハステロイなどの酸に強い素材を選択します。

2. 1回反射／多重反射ATR測定

1回反射ATR法で得られるスペクトル強度は、潜り込み深さが浅いため、透過法と比較すると弱い傾向にあります。そのような場合には、多重反射ATR測定装置を用いることで、感度を上げることが可能です（ただし粉末や固形物など、密着性の悪いサンプルは感度が減少する場合があります）。FTIR TALK LETTER vol. 19では、「測定法のイロハ-多重反射ATR法-」として、多重反射ATR法をご紹介します。多重反射ATR法は濃度の低いサンプルの測定に有効で、特に密着性の良い液体サンプルに威力を発揮します。

図3に示すMicromATR™(マイクロメーター)は1回反射、3回反射、9回反射ATRプリズムが選択可能です。図4に、1回反射、3回反射、9回反射ATRプリズムで測定した水のATRスペクトルを示します。1回反射ATRと比較すると、3回反射、9回反射ATRスペクトルでは、約3倍、9倍のピーク強度が得られていることがわかります。なお、9回反射ATRプリズムではプリズム径もφ5mm以下と小さく、測定に必要な試料量は30μlとごく少量です。

図5にはMicromATRの多重反射ATRプリズムの模式図を示します。ダイヤモンドプリズムとそれをサポートするZnSeレンズの間には隙間があるため、力がかかりすぎるとプリズムを破損する可能性があります。そのため、9回反射ATR測定装置は液体サンプル専用となっており、3回反射ATR測定装置は液体・固体どちらも測定できますが、硬いサンプルの測定には、1回反射ATR測定装置を推奨しています。



図3 MicromATR

3回反射ATRプリズムは図5、6に示す通り、1回反射ATRプリズムと同じくプリズムとプレートが面一になっていますが、9回反射ATRプリズムは、プリズム部分の凹みにサンプルを保持する構造のため、測定後の洗浄は入念に行ってください。

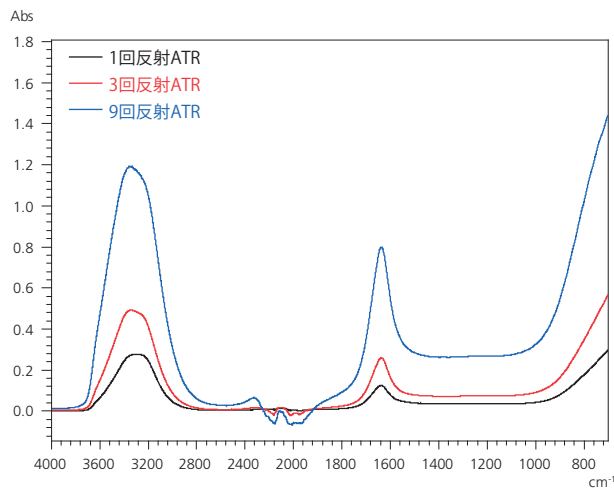


図4 水のATRスペクトル
(1回反射、3回反射、9回反射ATRプリズム)

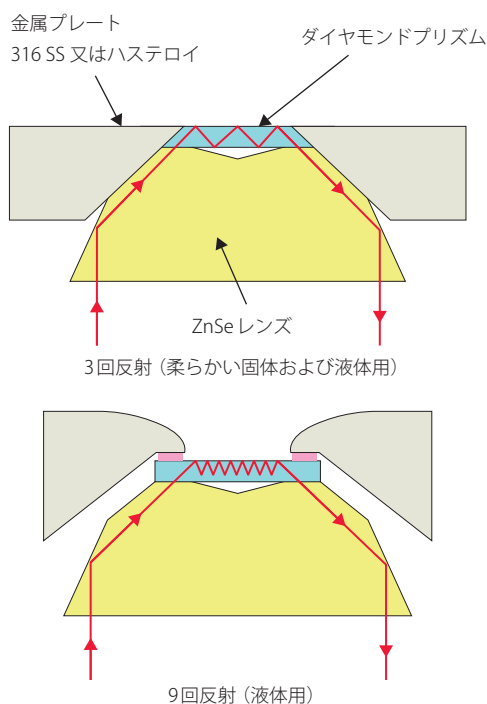


図5 多重反射ATRプリズムの模式図



図6 3回反射(左)と9回反射(右)ATRプリズム

3. 加熱ATR測定

通常は室温で測定しますが、ここで紹介するATR付属品を用いれば、温度コントローラを使用し、プリズムプレートを加熱することが可能です。

以下は、卵白の熱変性によるタンパク質二次構造変化について分析した事例です。MicromATR (図3) に加熱型3回反射ATRプリズムを設置して、鶏卵の卵白を分析しました。MicromATRでは、図7に示す温度コントローラを使用し、130℃まで加熱することができます。ここでは、プリズムの温度を40℃から100℃まで10℃ずつ上昇させ、各温度でスペクトルを取得しました。なお、卵白には水分が含まれるため、解析時に卵白のスペクトルから水のスペクトルを減算する必要があります。水の水素結合は温度に依存するため、水のスペクトルも各温度で取得しました。



図7 MicromATRの温度コントローラと加熱型3回反射ATRプリズム

図8に各温度における卵白のアミドIバンドの赤外スペクトルを示します。卵白のスペクトルから水のスペクトルを減算後、アミドIバンドを構成する1700 ~ 1600 cm⁻¹付近を拡大して表示しています。卵白は60℃に加熱すると変性し始めることが報告されています³⁾。図8より、60℃からスペクトル上に変化が現れ始め、1625 cm⁻¹および1675 cm⁻¹付近のピークが顕著に増加し、熱変性との相関が確認できます。

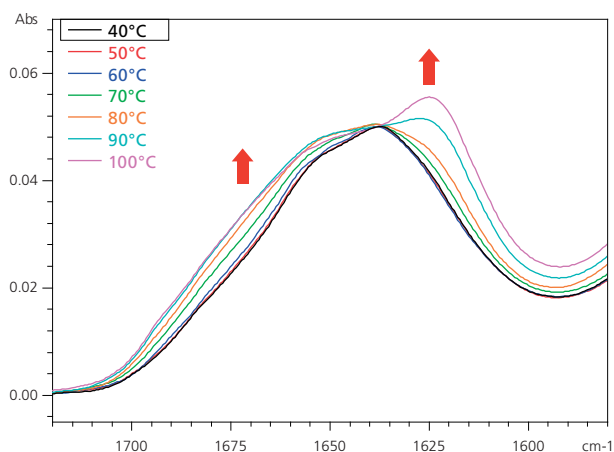


図8 卵白のアミドIバンドの赤外スペクトル

加熱できる温度は、付属品やプリズムの種類によって異なります。図9に示すGladiATR™は、210℃、300℃、350℃までの高温測定が可能な加熱プレートがあります。冷却オプションを付けることで低温ATR測定装置としても使用可能です。詳細は株式会社 エス・ティ・ジャパンへお問い合わせください。



図9 GladiATRと温度コントローラ

4. おわりに

ATR法は、液体、固体、粉体とサンプルの性状によらず、前処理なしで簡単に測定できるため、大変便利な付属品です。固体試料は密着性に依存しますが、液体試料はプリズムにサンプルを滴下するだけで測定できるため、定量分析にも使用されます。その際、多重反射ATR測定を採用することで、微小なピークを検出することもできます。また、加熱ATR測定により、物質の温度変化による反応追跡も手軽に行えます。

次回は引き続き、様々なATR測定装置のご紹介として、観察できるATR測定装置などをご紹介します。

参考文献

- 1) 田隅三生編著「赤外分光測定法 基礎と最新手法」株式会社エス・ティ・ジャパン
- 2) 厚生労働省「第十七改正日本薬局方」
- 3) Yoshinori Mine, Tatsushi Noutomi, and Noriyuki Haga Thermally induced changes in egg white proteins. *J. Agric. Food Chem.*, 1990, 38 (12), pp 2122-2125

MicromATRは、Czitek, LLC.の商標です。

GladiATRは、PIKE, LLC.の商標です。

Q&A

1720 cm⁻¹ 付近に小さなピークが見えますが、これは何に由来していますか？

1720 cm⁻¹ 付近に出現するピークはカルボニル基 (C=O) に由来しており、一般的には大きく目立つピークとなります。このピークが小さい場合、考えられることが2つあります。

まず、サンプルが混合物の場合です。図1は、ゴムパッキンとフタル酸エステルのATRスペクトルです。このゴムパッキンは、NBR (アクリロニトリル-ブタジエンゴム) に炭酸カルシウムとフタル酸エステルが含有されたものと考えられます。そのうち、フタル酸エステルはカルボニル基をもち、1720 cm⁻¹ 付近に大きなピークが見られます (図1: 黒色スペクトル)。一方、フタル酸エステルが添加剤としてゴムパッキンに含まれると、1720 cm⁻¹ 付近のピークが相対的に小さくなります (図1: 赤色スペクトル)。

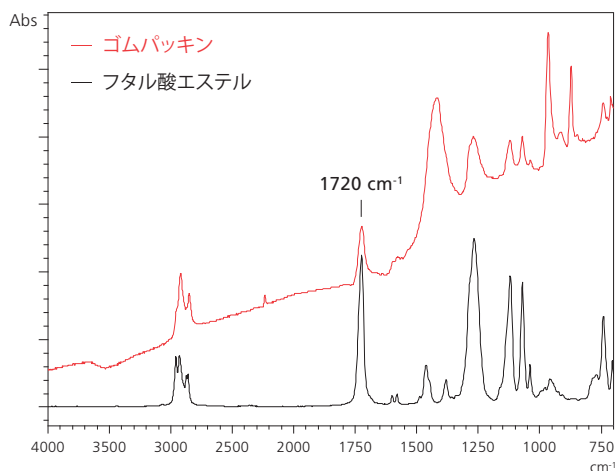


図1 ゴムパッキンとフタル酸エステルのATRスペクトル

次に、サンプルが劣化している場合です。図2は、ABS (アクリロニトリル-ブタジエン-スチレン) 樹脂の紫外線劣化の測定例です。通常、ABS樹脂はカルボニル基をもちませんが、UV照射により酸化劣化が進むと、1720 cm⁻¹ 付近にカルボニル基が出現します。また、照射時間を長くするとカルボニル基のピークは大きくなります。それ以外にも酸化劣化により、水酸基 (OH: 3400 cm⁻¹ 付近) の増加やトランスビニレン基 (=C-H 面外変角振動: 966 cm⁻¹ 付近) の減少も見られています。

以上の通り、1720 cm⁻¹ 付近に小さなピークがある場合、サンプルが混合物であることや酸化劣化していることを検討してみてください。

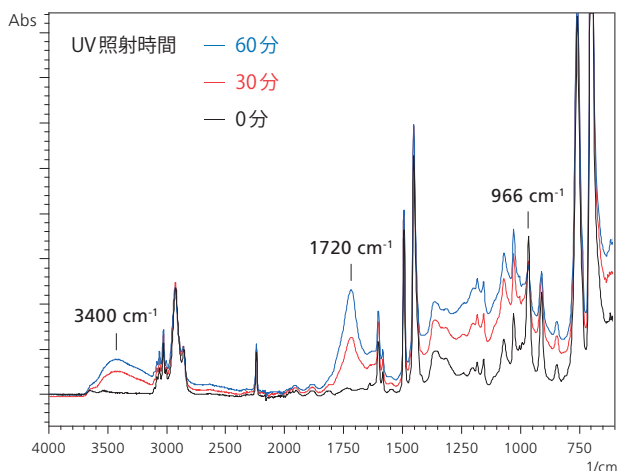


図2 ABS樹脂の紫外線劣化

島津製作所が提供するソリューション

分光光度計のデータインテグリティ強化

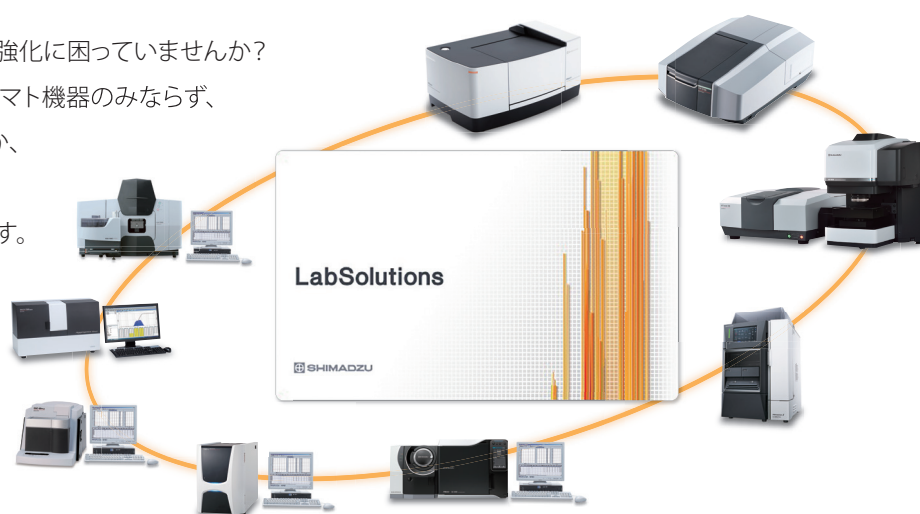
分光光度計のデータインテグリティ強化に困っていませんか？

島津製作所ならHPLC、GCなどクロマト機器のみならず、

FTIR、UV、RFなどの分光光度計ほか、

ラボのあらゆる分析機器の

データインテグリティ強化が可能です。

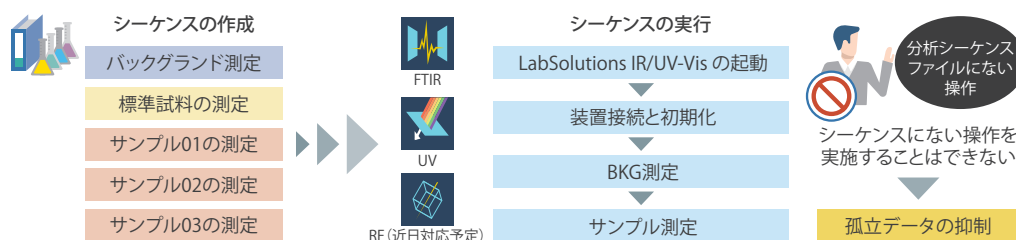


FTIR、UV、RFもネットワークでデータ管理

ラボのさまざまな分析機器のデータを分析データシステムLabSolutions DB/CSのデータベースで一元管理することにより、データ改ざんの防止を含め、信頼性の高いデータが得られるシステムを構築できます。

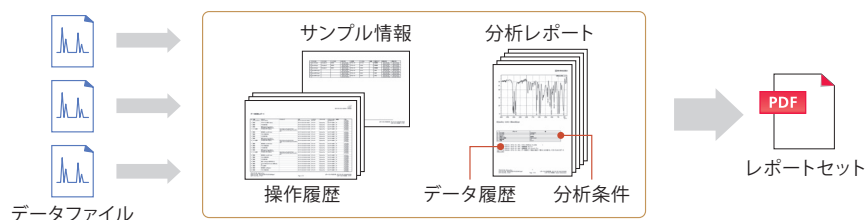
分析シーケンスによる孤立データの抑制

データインテグリティ対応においては、不正操作をしていないことを提示できるシステムが望まれています。島津製作所では、分光光度計に対して、分析シーケンスの概念を導入。試験指図書（あるいはSOP）に従って一連の分析を実施したことが確認できるようになります。



一連の分析操作を見える化

一連の分析操作の「見える化」を可能にしたレポートセットを作成することができます。誤った操作の確認が容易になることから、確認作業の効率化と信頼性の確保に貢献します。



分光光度計機器のデータインテグリティ強化について、詳しくはこちら
https://www.an.shimadzu.co.jp/apl/medicine/di_spectro.htm



FTIR
TALK LETTER

Vol. 32
April 2019

発行日 ● 2019年4月15日
編集・発行 ● 株式会社島津製作所 分析計測事業部 グローバルアプリケーション開発センター
連絡先 ● 分析計測事業部事業企画部“Shim-Solutions Club”事務局
〒604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1
E-mail: analytic@group.shimadzu.co.jp