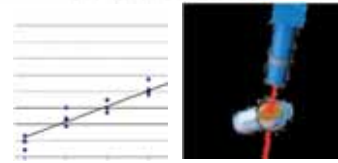


### 透過ラマン分光法とその応用



材料分析において、バルク材の平均的なマクロスケール情報が必要な場合に透過ラマンモードが有効です。

**Key Word** : 透過、バルク試料、医薬品、定量分析

#### 1. はじめに

透過光学系でのサンプルの測定によって、顕微タイプのような後方散乱光学系では測定できない新たな情報を得ることができるようになります。透過ラマン分光(Transmittance Raman Spectroscopy ; TRS)法は、新しい手法ではないものの、高出力近赤外レーザと透過ラマン専用のアクセサリの開発によって、最近再び注目を集めるようになってきました。TRSは錠剤のような光拡散する材料に有効なため特に医薬品応用分野で発展しました。この方法は、カプセルなど光が透過する材料についての主構成成分のスペクトルを得たい場合に適用できます。また、医薬品のパッケージ越しに内部を分析する場合にも利用できます。他に生体材料(組織、食品)や高分子材料といったさまざまな分野での応用が考えられます。

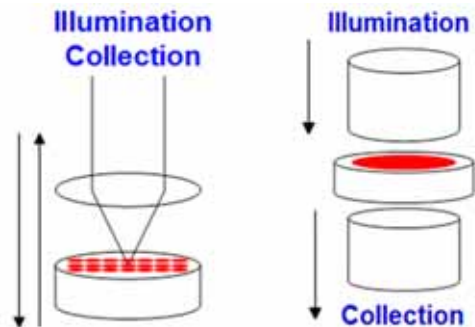


図1: 光学配置の比較  
顕微ラマン後方散乱(左)、透過ラマン(右)

#### 2. 透過ラマン分光法

ラマン分光法は、ここ数十年でハードウェア技術が著しく進歩しました。今では、顕微ラマン分光法の応用が広がり、サブミクロンレベルの微小領域分析が可能になってきました。しかし、顕微ラマンでは試料の微小領域、表面近傍、微量体積に限定されるために、不均一な試料の場合に十分に正確な情報を得ることが困難になる場合があります。透過ラマン分光はこのような場合に不均一試料のバルク測定への応用が期待されています。

図1に示すように、TRSはレーザ照射部の反対方向からラマン散乱光を集光する光学系を有し、その透過光から得られるラマンスペクトルは試料全体の情報を反映しています。

対照的に顕微光学系による後方散乱測定では、表面コートされているような医薬品錠剤では、コーティングの構成成分が主として検出されてしまいます。

図2に、消炎鎮痛錠剤(Advil: ibuprofen)の透過および後方散乱のラマンスペクトルを示します。青線のスペクトルは主にTiO<sub>2</sub>(145cm<sup>-1</sup>のピークはアナターゼ型であることを示しています。)およびコーティング主成分の糖のスペクトルが現れています。一方、透過ラマンスペクトルでは、コーティング由来のアナターゼのピーク以外にも内部の医薬品有効成分(API: Active Pharmaceutical Ingredient)由来であるibuprofenのピークが観測されています。

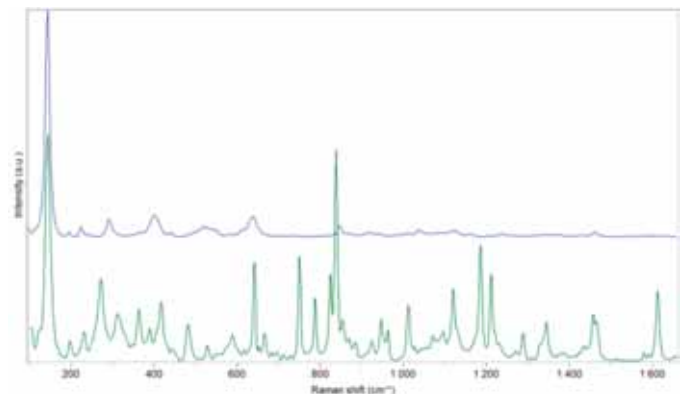


図2: 消炎鎮痛錠剤(Advil: ibuprofen)のラマンスペクトル  
光学配置: 透過(緑線), 後方散乱(青線)

Reference: HORIBA Raman Spectroscopy Application Note RA55

この資料に記載されている内容は改良のため、予告なく変更することがあります。

## 3.透過ラマン分光法の医薬品への応用

### 3-1. 検量線法による定量評価

製剤におけるAPI含有量のモニタリングは、製剤プロセスにおいて重要です。錠剤やカプセルの透過ラマンスペクトルは試料全体の状態をよく反映し、薬剤の偏析の影響を受けることなく、複数の構成成分の定量化が可能になります。一連の既知濃度の参照試料の透過ラマンを測定し、部分最小自乗 (Partial-Least Square) 法といった最適なケモメトリックスアルゴリズム適用することにより、検量線法による未知試料の定量が可能になります。

図3は、API濃度が85%から115%まで変化した場合 (全量の21.2%から28.7%に相当) の透過ラマンスペクトルの違いを示しています。図4は、API濃度調製錠剤を用いた交差検証結果 (Cross-Validation) です。この結果は、TRS法によって得られた検量線が、十分な定量性を持つことを示しています。

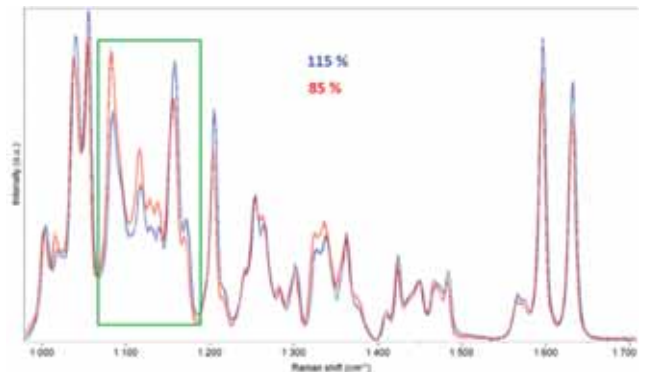


図3. API濃度の異なる2種類の錠剤の透過ラマンスペクトル  
錠剤調製値: 115% (青線)、85% (赤線)

### 3-2. 結晶多形

多くの活性薬剤が、いくつかの結晶形を持つことが知られています (結晶多形)。それらの内、ある結晶形を持つものだけが、目的とする薬効を持つものも少なくありません。このような場合、混合系の中の結晶形の比率を制御することが不可欠になります。ラマン分光法は、結晶多形を判別するために非破壊で化学選択性の高い分析手法であることから、錠剤やカプセル中の複数の結晶形の決定に適用することができます。図5に示すように、スペクトルの明瞭な差が観察できることから、TRS法は製剤中の結晶多形を識別可能であることがわかります。また、各結晶形の比率を定量的に求めることもできます。結晶形1の中に、2%の低レベルで結晶形2が含まれている場合でも定量的に比率を求めることができます。

## 4. 食品の脂肪含有率の分析

食品の脂肪酸組成は、様々な点で食品の品質に決める要因になっています。例えば、トランス脂肪酸の摂取は健康障害のリスクを高めます。それゆえ、多くの国で規制の対象になっています。脂肪酸の組成は、脂肪組織内の各層によって変化します。それゆえ、組織全体の組成濃度を調べる場合、バルクサンプルの平均スペクトルを得ることが必要になります。

TRS法は、このようなバルク全体の平均情報の取得方法として有効です。ここでは、羊、子牛、豚の肉の脂肪組織の測定結果を示します。試料は様々な大きさと厚みのものを用い、前処理をしないで透過ラマン分光法で分析しました。ラマンスペクトルには試料組成についての多くの情報が現れます。例えば、トランス脂肪酸の情報は、スペクトル上でははっきりと読み取ることができます。1668 $\text{cm}^{-1}$ のピークは脂肪酸のC=C二重結合のトランス異性体構造を直接反映したピークです。同様に、ラマンスペクトルは、脂肪酸の定量分析にも用いることができます。これらの脂肪組織のラマンスペクトルをもとに識別を行うこともできます。その例として図7に統計解析によるスコアの散布図を示します。

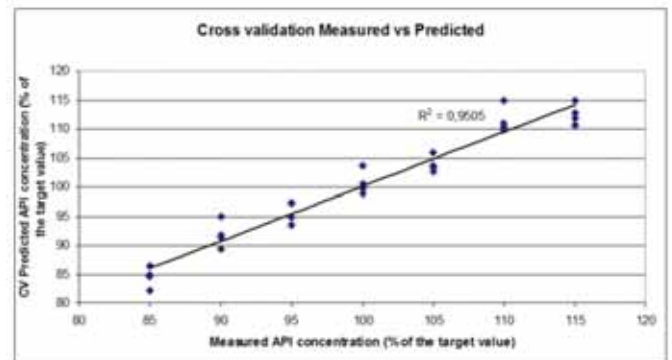


図4. API濃度調製錠剤を用いた交差検証結果  
予定調整値 (縦軸) と部分最小自乗法 (PLS) によるラマン定量結果

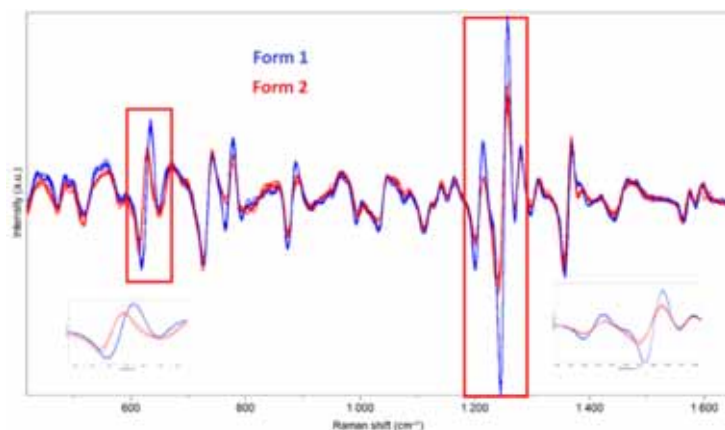


図5. 活性成分として異なる結晶形 (Form1、Form2) を含む2種類のカプセルの透過ラマン微分スペクトル

この資料に記載されている内容は改良のため、予告なく変更することがあります。

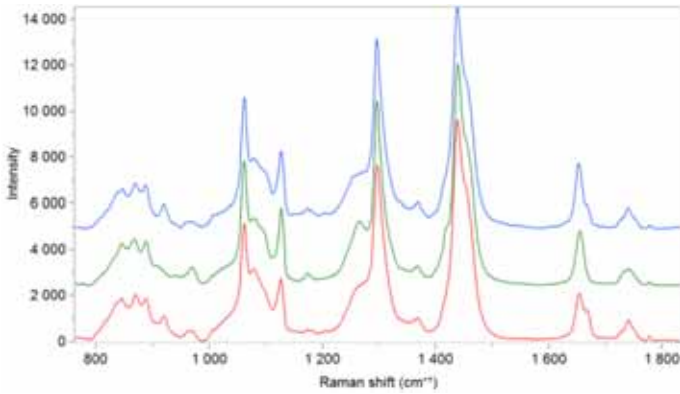


図6. 脂肪組織の透過ラマンスペクトル  
785nmレーザー励起透過ラマンアクセサリ使用  
青線:羊、緑線:豚、赤線:子牛

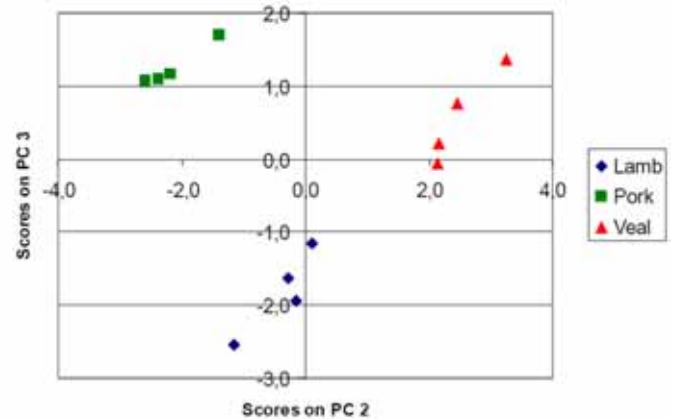


図7. 脂肪組織の透過ラマンスペクトル  
785nmレーザー励起透過ラマンアクセサリ使用  
青線:羊、緑線:豚、赤線:子牛

## 5. 透過ラマン分光法の新しい応用例

とくに医薬品応用で有効なTRS法は、他の様々な試料にも適用できます。

高分子材料はこの手法の応用に適した試料の一つと言えます。図8は、高分子材料であるポリエチレン(PE)、ポリプロピレン(PP)、およびその2層フィルムの透過ラマンスペクトルです。赤線で示す2層の透過ラマンスペクトルには、それぞれ単層のスペクトルの特徴が現れており、2層試料の一回の測定によってそれぞれの層の情報を得ることができます。このスペクトルを解析することで、各層、あるいは、各構成成分の定量的な評価が可能で

ます。TRS法は高分子材料の研究開発のみならず、生産ラインでの品質管理への適用も期待できます。

### 5-1. 包装材料を通じた測定

先の応用例で示したように、バルク測定が必要なとき、例えば、包装された材料について包装材料を取り外すことなしに分析するためにTRS法は有効です。

図9に、PET(ポリエチレンテレフタレート)で包装されたシャワージェルのスペクトルを示します。この例では、測定スペクトルへのPETスペクトルの影響が抑えられていることから、ジェルの品質管理にこの測定技術が適していることがわかります。サンプル瓶などに採取することがないので、採取による試料成分の偏りや汚染(コンタミネーション)のリスクを受けることなく測定できます。

このような製品の包装工程の安定性を評価する技術として、TRS法は今後その利用範囲が広がっていくと考えられます。

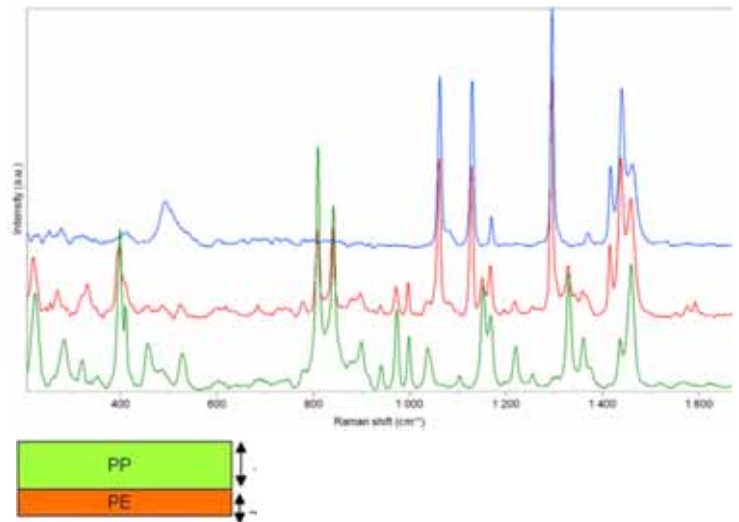


図8. 高分子材料の透過ラマンスペクトル  
青線:ポリエチレン(PE)、緑線:ポリプロピレン(PP)、赤線:PP(1.5mm厚)、PE(0,75mm厚)の2層構造試料

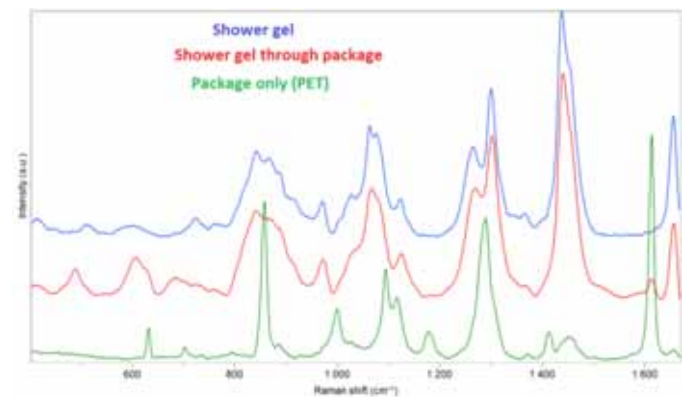


図9. シャワージェルの透過ラマンスペクトル  
青線:ジェルのみ、赤線:パッケージ越しに測定したジェル、緑線:パッケージ(PET)

この資料に記載されている内容は改良のため、予告なく変更することがあります。

## まとめ

透過光学系を用いたTRS法は、バルク材料のラマンスペクトル情報を得るための有効な測定技術です。医薬品応用として錠剤や粉体混合物が、本手法のよい適用事例であることが立証されています。

また、透過ラマン法は、高分子材料や生体材料、その他の半透明な材料、さらに包装された内部の製品成分濃度評価にも利用できます。

加えて、透過ラマン分光法は、測定試料の全体情報を表しているため、混合物の定量測定が必要な場合にも利用できる技術です。

さらに詳しい情報を知りたい方は、下記を参照ください。

1. K. Buckley, P. Matousek, J. Pharm. Biomed. Anal. 55, 645-652 (2011).

2. J. Johansson, A. Sparén, O. Svensson, S. Folestad, M. Claybourn, Appl. Spectrosc. 61, 1211-8 (2007).

3. Heidi Najbjerg, Nils Kristian Afseth, Jette F. Young, Hanne C. Bertram, Mona E. Pedersen, Stine Grimmer, Gjermund Vogt and Achim Kohler, Monitoring cellular responses upon fatty acid exposure by Fourier transform infrared spectroscopy and Raman spectroscopy, Analyst, 136, 1649-1658, 2011.

4. Beattie, J. R. et al., 2006, Prediction of Adipose Tissue Composition Using Raman Spectroscopy: Average Properties and Individual Fatty Acids, Lipids, v. 41, n ° 3, p. 287 – 294.

5. Afseth, N. K., V. H. Segtnan, B. J. Marquardt, and J. P. Wold, 2005, Raman and near-infrared spectroscopy for quantification of fat composition in a complex food model system: Applied Spectroscopy, v. 59, p. 1324-1332.

6. Jonas Johansson, Staffan Folestad, Christoffer Abrahamsson, Tomas Svensson and Stefan Andersson-Engels, NIR News, 17(4), 2006