

二波長分光光度計特集

二波長分光光度計について

大 西 勁*

1. 二波長分光の歴史

二波長分光光度計は、従来のモノクロメーター1台の手動式分光光度計、あるいは波長をスキャンできる自記分光光度計とは本質的に違った分光光度計である。ここに、本質的というのは、大西 勁従来のモノクロメーター1台の分光光度計ではどうしても測れない量が、容易に測定できるからである。



二波長分光の意味は、まだあまり一般には理解されていない。二波長分光方式は、1951年にBritton Chanceが発表したり²⁾もので、それ以来、Chanceのグループによって、ここ10数年間、生体色素の反応について、ユニークな仕事が続々と発表されたが、だれもこの機械が作れなかったのが追試できなかった。

市販品が出だしたのは2、3年前からで、それまではアメリカのAminco社とPhenix社から出ただけである(Aminco社も、はじめはなかなかこの機械が理解できず、Chanceの研究所にいた研究者がAminco社にはいり、やっと完成したという)。

日本では、筆者がChanceのとは違う機械で製作して1963年に発表し³⁾その後、多波長方式⁴⁾フィルタ方式⁵⁾などを種々試作していたが、各方面からの強い要望により、このほど、この機構を基にして日立製作所で製作されるようになった。

2. 濁った試料のために開発された二つの分光方式

生物分野の研究では、生細胞の懸濁液、細胞内顆粒(かりゅう)の懸濁液、筋肉組織などをそのまま測ることが多く、試料の“濁り”による光散乱の影響をどう取り除くかという問題にぶつかる。

Chanceによれば、波長スキャン式の分光光度計は、**図1**(次ページ)のようないわゆるSplit beam分光光度

計をデザインして²⁾振動ミラーとチョッパーを連動した一種の複光束方式だが、その特長は、(1)直径5cmのヘッドオン形フォトマルチプライヤの受光面にはほとんど密着してサンプルセル、レファレンスセルを置き、散乱光を有効に集めて散乱の影響をなくしたこと、(2)フォトマルチプライヤの高圧制御によるフィードバックなので、レスポンスが早いこと、(3)一受光部方式なので、base line補正の必要が少なく安定である、などで、フルスケール0.D=0.05で、向うが見えないくらいに濁った試料の吸収スペクトルが自記できる。

もう一つの方式が、ここで問題にしている二波長分光光度計(**図2**)である。Chanceはこれをdouble-beamと呼んだが、複光束方式とまぎらわしいので、最近は一波長(two wavelength またはdual wavelength)分光光度計と呼ぶようになった。

目 次

二波長分光光度計 特集

■二波長分光光度計について……大 西 勁……	1
■ 356形 日立二波長/自記分光光度計について……	
本川 忠, 猪俣 博, 田沢睦朗, 黒石忠文, 保田和雄…	4
■二波長分光光度計によるフィトクロムの測定……	
……古 谷 雅 樹…	7
■二波長測光法の比色分析への適用	
—— 356形 日立二波長/自記分光光度計の有用性——	
……柴田正三, 古川正道……	9
■ 356形 日立二波長/自記分光光度計による	
二, 三の測定例……小 森 律 夫…	14
■二波長測光について……小森律夫, 保田和雄…	23

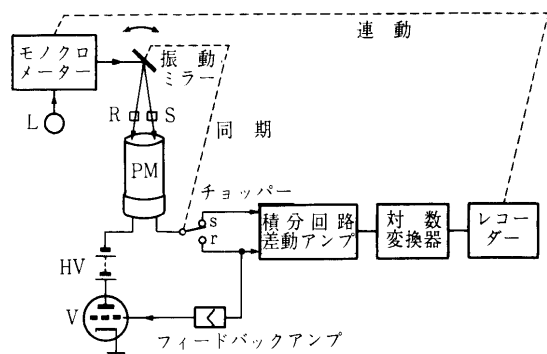


図1 Split beam 分光光度計

L: 光源, S: 試料セル, R: 対照セル, PM: 光電子増倍管, HV: 高圧, V: 制御管(対照セルを通ってくる光量に応じてフィードバックしてグリッドバイアスを変え、それに伴う真空管の内部抵抗の変化でPMにかかる高圧を制御し、波長をスキャンしても対照セルによる出力が一定になるよう保つ)

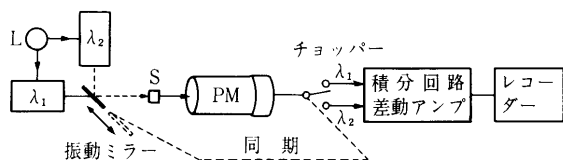


図2 Chance の二波長分光光度計

L: 光源, λ_1, λ_2 : モノクロメーター, S: 試料, 1個の試料を通る二つの波長における吸光度の差を時間的に記録する。波長スキャンは行なわない。一般に微小変化の検出を目的としているので、対数変換器は付けないことが多い。

Chance の方式は振動ミラーとチョッパーであるが、われわれは回転セクタとゲート回路方式とを用いて、安定な動作を得ている (図3)。

どちらの方式でも最高感度では、フルスケール $\Delta 0.D = 0.005$ で測定でき、ノイズは $\Delta 0.D = \pm 2 \times 10^{-4}$ 程度にまでおさえることができる。また、われわれは、三波長で、それぞれ独立に、あるいは2組の差を記録できるような多波長分光光度計も製作した。⁵⁾

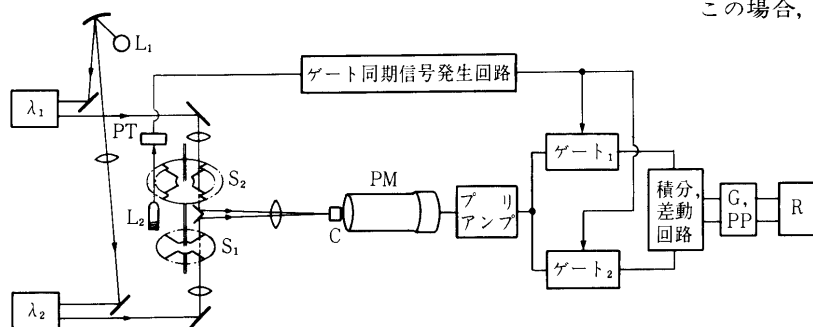


図3 二波長分光光度計(第1号機)のブロックダイアグラム

λ_1, λ_2 : モノクロメーター, L_1 : タングステンランプ, L_2 : 12V豆ランプ, PT: photo transistor (PD3 L), S_1, S_2 : 回転セクタ(レンズでセクタ上に光源の像を結ばせる。 S_2 はゲート同期信号用セクタも兼ねている), G, PP: 感度, ペンボジション, R: レコーダー

3. 二波長分光方式の特長

第1の特長

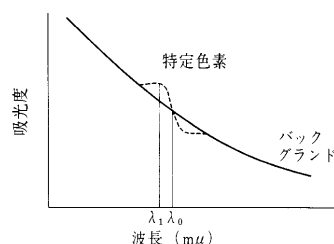
一つの特定の色素の量を、近接した二つの波長における各吸光度の差を測定し、1台のレコーダーに記録する

したがって、

- (1) 近接した波長を用いるために、濁り度の影響、濁り度が時間的に変化するのための影響、およびほかの色素による影響などを除くことができる。
- (2) 二つの出力の差を記録するために、光源の変動、電源電圧などに影響されることが少なく、高感度の測定ができる。
- (3) 以上二つの特長のために、濁った生物試料ばかりでなく、吸収を用いた種々の分析化学的定量や滴定に新しい分野を開くことができる。

この種の測定の具体例を示そう。図4のバックグラウンドは、濁った試料の吸収スペクトルを示す。光散乱のために、短波長になるにしたがって、吸光度が大きくなるスペクトルが得られる。

いま、この試料が何かの化学変化を起こして、特定の色素の吸収変化が起こり、点線のようなスペクトルが表われたとしよう。このとき、吸光度の変化しない波長を λ_0 、

図4 混濁試料のバックグラウンド(実線)に重なった特定色素の変化(点線)を $OD(\lambda_1) - OD(\lambda_2)$ で測定

最も変化する波長を λ_1 とし、 $\Delta 0.D(\lambda_1) - 0.D(\lambda_0)$ の時間変化を記録すると、図5(a)に示すような反応速度論解析が可能になる。

この場合、 λ_1 と λ_0 が近接しているため、バックグラウンドが時間とともに変化しても、その影響は非常に少ない。しかし、バックグラウンドが変化するとき、普通の自記分光光度計でこの種の測定を行なうことは、まず不可能である。

二波長分光光度計では、時間変化をレコーダーで記録するので、波長スキャンは行なわない。また、二波長分光光度計は、当然、時間的に変化する現象にも使え、たとえば、ある試薬を加えるたびに少しずつ吸光度の変化が起こるような場合は、レコーダーをゆっくり走らせておいて滴定を行なえばよい。そうすれば、メーターの目盛を一々読

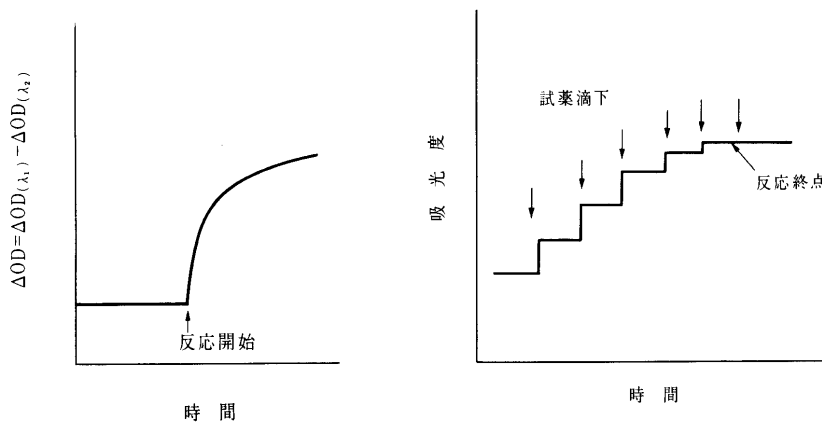


図 5 (a) 時間変化の追跡から
反応速度論的解析の測定

図 5 (b) 滴定から平衡定数、結合比の
測定

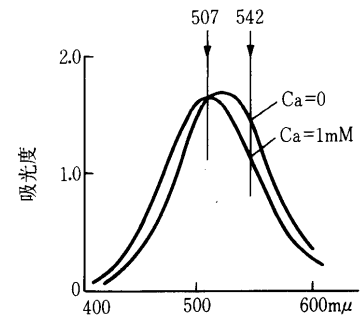


図 6 (a) ムレキサイド色素の吸収曲線

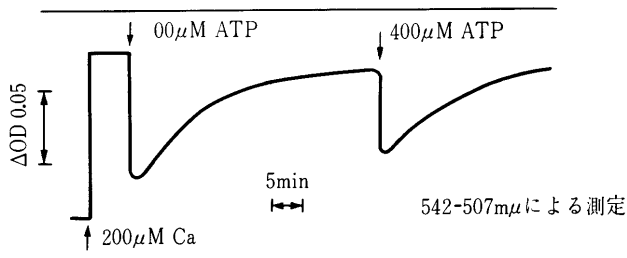


図 6 (b) ムレキサイドを用いた筋弛緩因子のCa 吸着の
自己記録

みながら行なう手間がいらず、あとから簡単に記録紙から読み取ることができる〔図 5 (b)〕。吸光をもたない物質でも、それに反応する適当な色素を混ぜてやると、図 4 と同じ原理で、簡単に連続測定ができるようになる。筆者らは、生理的環境(pH7)における筋肉弛緩(しかん)因子の懸濁液中の微量 (10^{-5} M 程度) の Ca イオンの濃度変化を、ムレキサイド色素を用いて連続測定することに成功した⁷⁾⁸⁾〔図 6 (a) (b)〕。

Chance らは、⁹⁾¹⁰⁾細胞内顆粒の膜あるいは懸濁液の H^+ イオンの量の変化を、pH 指示薬と二波長分光光度計〔たとえば、前者では B T B (618-700mμ)、後者では B C P (580-640mμ) というように適当な指示薬と適当な波長〕で測っている。

各種の金属指示薬が、現在、大へん進歩しているので、たいていの金属は、指示薬と二波長分光光度計で、高感度かつ容易に定量できる。また、陰イオン、各種の化合物、有機物などにも、この方法を応用できる。色のないものでも、紫外域には何か吸収があるものだから、紫外まで測れる二波長分光光度計の応用分野は無限であるといつてよい。

第 2 の特長

レコーダーを 2 台使い、二つの波長におけるそれぞれの吸光度の変化を独立に記録できる。

- (1) たとえば、 $A + B \longrightarrow C$

という反応があり、A の量を λ_1 で、C の量を λ_2 で測れるとすると、この反応の速度論的解析が非常に容易にできる。この場合は、 λ_1 と λ_2 はむしろ、かなり離れた波長のほうが相互の影響が少なくてよい。

- (2) λ_1 と λ_2 が近くて干渉するときは、つぎのような方法が可能である。図 7 のように、 λ_2 で C の吸収を測るときに、A の吸収がはいってくるでしょう。このとき、A の吸収曲線のピーク (λ_1) 値 **a** と λ_2 のときの値 **b** の比がわかっていれば、

$A \longrightarrow \lambda_1$ の吸光度から

$$C \longrightarrow (\lambda_2 \text{ の吸光度}) - \frac{b}{a} \times (\lambda_1 \text{ の吸光度})$$

というように、両者を分離測定できる。

この操作は、電氣的に函数をかけて差をとることで容易に行なうことができる。

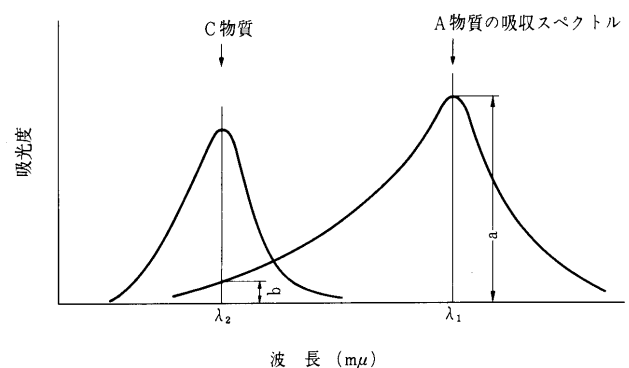


図 7 干渉がある場合でも二つの物質を同時に分離定量

4. Split beam 方式と Two wavelength 方式との組み合わせ

濁った試料を目標に開発されたこの二つの方式の分光光度計は、図1および図2からわかるように、非常に似た構造をもっているので、1台でこの両方式に使える分光光度計を作ることが可能である。このほど、日立製作所で製作されたものはこの両方式を組み合わせたもので、Split beam, 二波長のそれぞれの目的に使えるほか、つぎのような利点をもっている。

(1) 未知の試料を測定する場合は、まず、Split beamとして波長をスキャンして特定の吸収を見つけ、つぎに、その点に波長を固定して、二波長に切り換えて時間変化を追うことができるので、研究の能率が飛躍的に増大する。

(2) Split beam として波長をスキャンするときは、二つのビームの波長を等しく

$$\lambda_1 = \lambda_2$$

として行なうわけだが、この二つにわずかな差をもたせて

$$\lambda_1 = \lambda_2 - \Delta\lambda$$

として行なうと、微分スペクトルが得られる。

5. 今後の問題

以上のように、二波長分光の用途は無限にあるので、各研究者がそれぞれ工夫して新しい用途や測定法を開発していただきたい。

筆者が最初に製作したときは、別に大した目的もなく、

ただChance 以外にだれも作った者がいなかったもので、ひとつ作ってやろうという意気込みで作っただけであるが、でき上がってみると、Caの測定、筋肉弛緩因子の機構の研究、その他多くの方法を開発することができた。

新しい測定装置は新しい測定方法を産み、新しい研究分野を広げる。二波長分光方式が、より広く取り入れられ、より発展することを祈るものである。

参 考 文 献

- 1) Chance, B., Rev. Sci. Instr., 22 634 (1951)
- 2) Chance, B., Science, 120, 767 (1954)
- 3) Ohnishi, T., Hagihara, B., and Okunuki, K., J. Bio chem., 54, 287 (1963)
- 4) Ohnishi, T., J. Bio chem., 55, 172 (1964)
- 5) 大西 勁, “生体膜実験技術” P. 49. (南江堂1967)
- 6) Yang, C.C. and Legallais, V., Rev. Sci. Instr. 25 801 (1954)
- 7) Ohishi, T. and Ebashi, S., J Bio chem., 54, 506 (1963)
- 8) Ohnishi, T. and Ebashi, S., J. Bio chem., 55, 599 (1964)
- 9) Chance, B. and Mela, L., J. Biol chem., 241, 4588 (1966)
- 10) Chance, B. and Mela, L., Proc Natl. Acad Sci., 55, 1243 (1966)

356形 日立二波長／自記分光光度計について

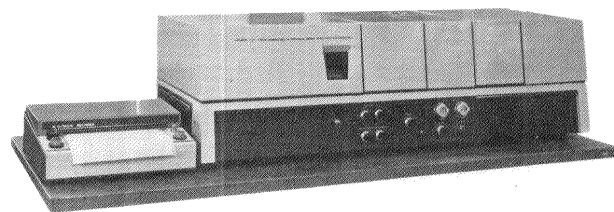
本川 忠* 猪俣 博* 田沢睦朗*
黒石忠文* 保田和雄*

1. ま え が き

従来の分光光度計はベールの法則に従う試料を対象とするものであった。このため、この種の装置は濁った試料中では光の散乱のために、得られる情報の信頼性が低かった。生化学の分野においては、細胞やタンパクを構成している特定分子についての測定が問題になるので、試料も光源であるという考えに立っていない従来の分光光度計では、ほとんど測定が不可能であった。

B. Chance は、この光散乱の因子を取り除き、目的とする分子の吸収を測定するために、二波長測光方式を考案した。¹⁾²⁾ この測定は一つの波長で試料の散乱光を検知し、他の一つの波長で試料の散乱光と吸収とを検知し、

*日立製作所 那珂工場



356形日立二波長／自記分光光度計

両者の差を測定することによって、特定の吸収を検知するものである。これによれば、散乱に基づく影響が除去できて、目的とする吸収だけを取り出せることになる。透過光の強度が $\frac{1}{10}$ のように大きく減少したとしても、検

知するのに必要な光量があれば、吸収の深いところでのわずかな吸収の変化も測定することができる。Butler らは、フィルタ式二波長光度計を試作し³⁾、植物中の色素タンパクであるフィトクロムを測定した。G. S. Birth⁴⁾は、果実の熟成度を測定するために二波長方式を用いた。すなわち、リンゴの中のChlorophyllの量が熟成と関係があるので、果実そのものに光を透過させてChlorophyllの吸光度を測定し、その熟成度を調べた。大西は、二波長ではなく、多波長方式の測定装置を開発し⁵⁾、筋肉弛緩(しかん)因子によるCaイオン結合の測定などの研究を行なった。細胞内顆粒(かりゅう)などの大きい粒子中の特定分子の吸収スペクトルは、この粒子による散乱のために通常の分光光度計では測定不可能に近かった。

これは散乱光に含まれる情報を検知できなかったためである。このため、B. Chance は試料を検知器の直前に置き、散乱光をも検知するようにして顆粒中の特定分子の吸収スペクトルをより明確に測定できるようにした。柴田⁶⁾は、通常の分光光度計を用い、試料の直前あるいは直後にオパールガラスを置き、透過光のほかに散乱光を検知して、濁った試料の吸収スペクトルを測定した。

この二波長測光方式と自記分光測光方式とは、常に表裏一体として使用されている。このため、日立二波長/自記分光光度計は、この両種の機能を1台の装置で兼ね備えるようにし、さらに両機能を結合することにより必然的に得られる微分スペクトルなどの測定も可能にした。

2. 装置について

この装置は、大別すると、光学系と信号処置の2方式に大別される。

光学系についてみると、紫外光源には重水素ランプを、近紫外—可視光源としては輝度温度の高いよう素ランプを用いた。これから放射される光は、図1(a)に示されるように、上下2段に分かれて自由に可動できるグレーティングをもつモノクロメーターによって分光され、波長1と波長2の光束に分けられる。この二つの光束は、チョッパーを通り、ミラーによって1ヵ所に集光される。また、同じミラーの角度を変えることによって、波長1と波長2とは別々の位置に採光され、この集光したところにセルが置かれるようになっている。前者の方法によって二波長測光が、後者の方法によって自記分光測光が行なわれる。二つのグレーティングは全く独立しているため、これを同一平面に合わせ(同一波長にする)波長掃引すれば自記分光測光になり、少し波長をずらし両グレーティングを同一速度で掃引すると、微分スペクトルが求められる。試料から検知器までの光学系は、測定対象や目的によって種々変えることがあるので、本装置では、この点に多様性をもたせて、探知器は任意な位置に置けるようにした。信号の探知は、チョッパーと検知器のgate回路が同期し、波長1, 2の信号を別々に取り出すようにした。また、波長1の信号に対し波長2の信号の比を求める方式、差を求める方式をとるようにした。

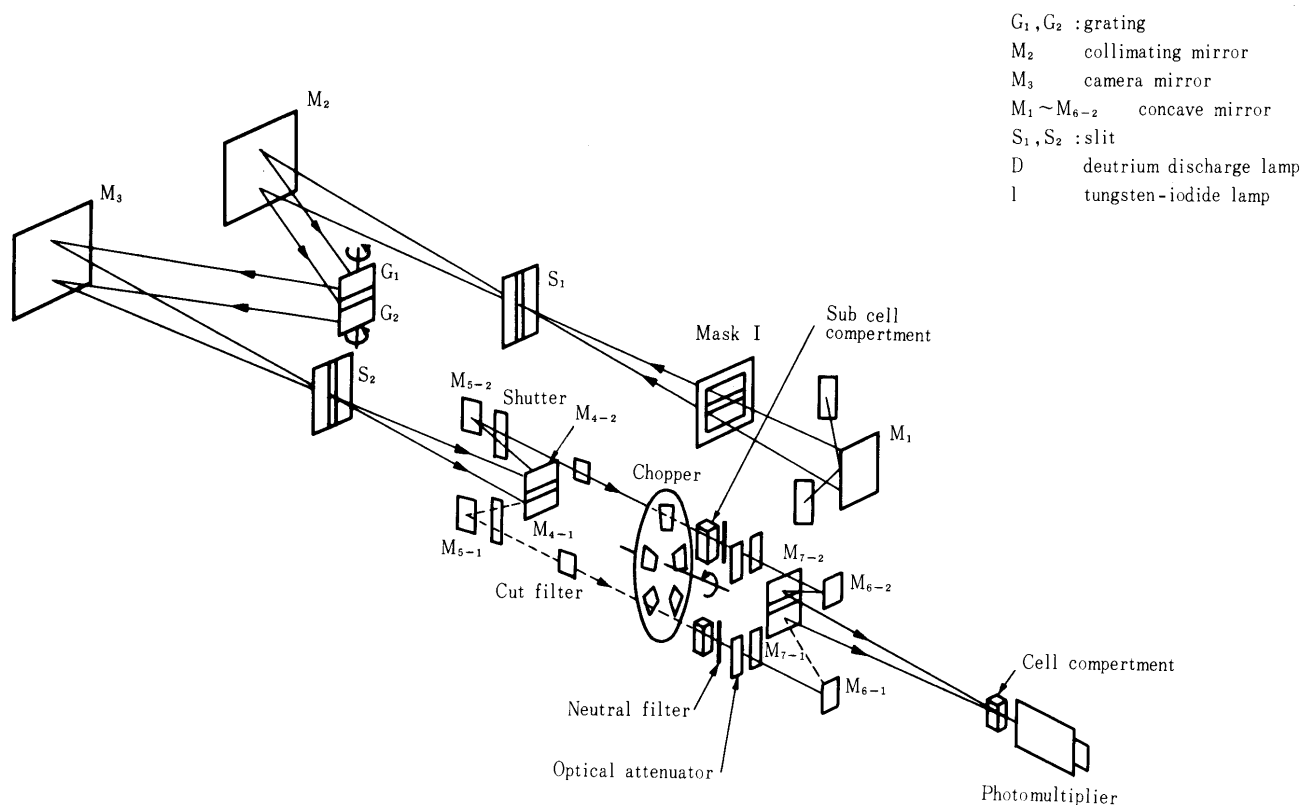


図1(a) 356形 二波長/自記分光光度計光学系統図

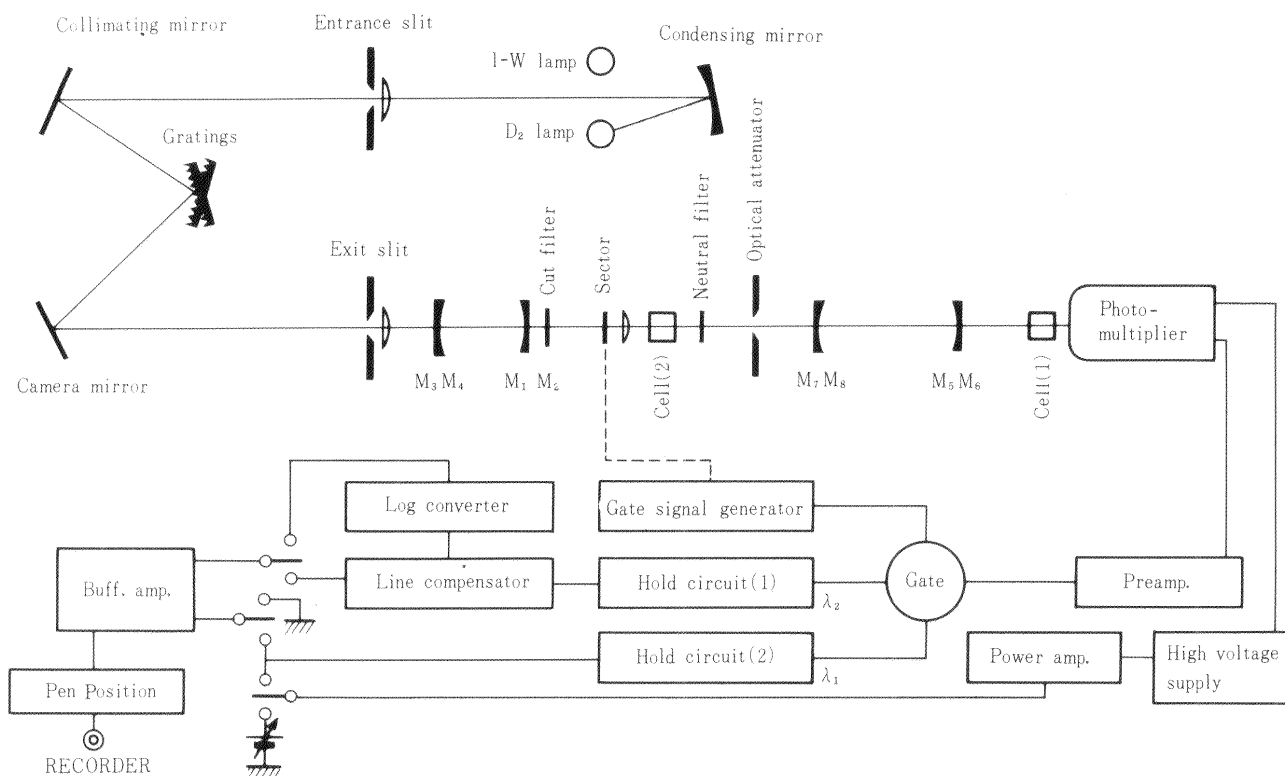


図1 (b) 356形 日立二波長／自記分光光度計ブロックダイアグラム

本装置は、透過率表示のほかに吸光度表示をとるようにした。生化学では光化学反応を追跡する場合も多いので、このときには照射光の影響を除く必要がある。このために図2に示すように、ほかの光による信号と波長1, 2の信号との差を取り出すようにして照射光などのwhite noiseを除くようにした。このことは、測定妨害になる光があったとしても、これが検知を飽和させない限り妨害にならないことを示すものである。また、光源lampの安定度を増すことによって、吸光度の拡大を40倍まで行なえるようにした。

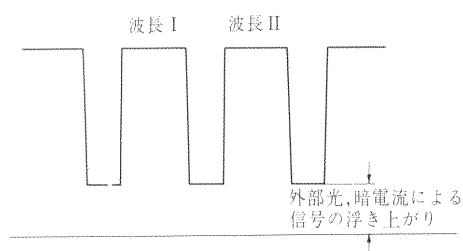


図2 外部光、暗電流などによる信号の浮き上がりの補償

3. 測定モード

自記分光光度計のモノクロメーターのグレーティングを2個にし、これを独立に可動できるようにしたこと、測光モードはつぎのように非常に多用途化されるようになった。

(1) 自記分光測光

二つのグレーティングで分光された光を同一波長に設定し、これを同時に掃引することによって行なうことができる。また、試料は検知器の直前、あるいは距離を離して置くことができる。前者は濁った試料の場合に、後者は蛍光性試料の場合に用いるモードである。

(2) 微分スペクトル測光

二つの分光された光を1～2 mμの間の波長差を定めて設定し同時に掃引する。この微分スペクトルの測光は、スペクトル分布曲線の肩などを鑑識するのに最もすぐれた方法である。

(3) 二波長測光

分光された任意の二つの波長の光で化学反応などを追跡する方式である。

(4) 一つの波長固定、一つの波長掃引

自記分光光度計で標準になる試料が取れる場合には、差スペクトルを測定することができる。しかし、生化学の試料ではしばしば標準になる試料がとれない場合が多い。このような場合には、波長1の信号を基準にして波長2を掃引すれば、標準試料なしで差スペクトルに似たスペクトルを求めることができる。

(5) 分光光度計2台の組み合わせ

波長1, 2の信号を別々に取り出せるので(付属品)、分光光度計2台で同時測光したのと同じ使用方法ができる。

参 考 文 献

- 1) Chance, B., Rev. Sci. Instr., 22, 634 (1951)
- 2) Chance, B., Science, 120, 767 (1954)
- 3) Butler, W. L., Norris, K. H., Siegelman, H. W., and Hendricks, S. B.
Proceeding National Academy of Science
45 : (12) 1703~1708, (1959)
- 4) Birth, Gerald S., Norris, Karl H., and Yeatman, John N.
Non-destructive measurement of internal color of tomatoes by spectral transmission.
Food Tech. 11 : (11) 552-557, 1957
- 5) Ohnishi, T., J. Biochem., 55 172 (1964)
- 6) K. Shibata T., "Spectrophotometry of translucent biological materials; opal glass transmission method," in "Methods of Biochemical Analysis," (ed. by D. Glick) Vol. VII, Interscience Publ. Inc., New York (1959)

二波長分光光度計によるフィトクロムの測定

古 谷 雅 樹 *

1 ま え が き

フィトクロムはすべての植物に含まれる色素タンパクで、分子量は約7万、発色団である開環したテトラピロールの光異性化によって、相互に何回でも可逆的に変換する二つの吸収スペクトル型(図1)を示す。フィトクロムが、赤色光吸収型(P_R)であるか、近赤色光吸収型

(P_{FR})であるかによって、植物の発生や分化の道すじが運命づけられるが、これはあたかも光がスイッチを一方から地方へ交互に切り換えているような現象である。フィトクロムによる生体制御機構の解析は、現代の発生学・生化学・生物物理学の重要な課題の一つであるが、生体内のフィトクロムの測定はその研究の出発点にあたる。

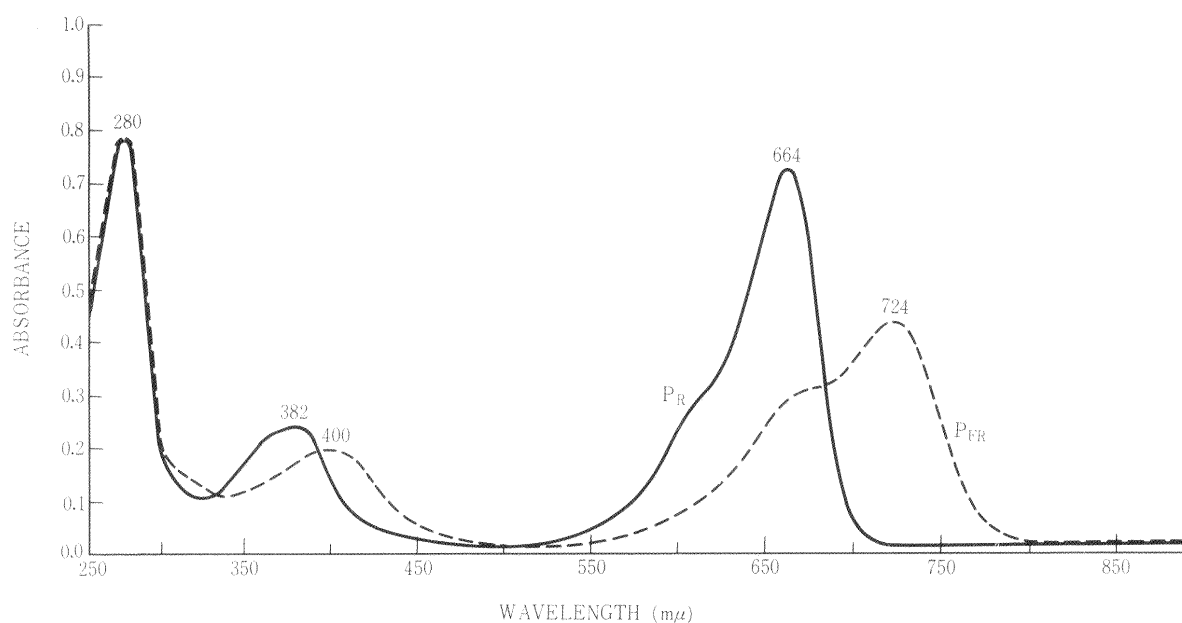


図1 フィトクロムの吸収スペクトル(Munford)

——、赤色吸収型(P_R)
、近赤外光吸収型(P_{FR})
 (Munford & Jenner, 1966)

* 東京大学 理学部 植物学教室

2. 測定装置

組織中に数多くの他の生体物質と共存する低濃度のフィトクロムは、B. Chance の考案した二波長分光計によって正確に定量できる (W. L. Butler, 1959)。われわれは共同して、1961年以来、フィトクロムの測定装置を開発し、261形分光計を完成した。

この装置の特長は

- (1) 植物組織のような混濁試料をそのまま測ることができる。
 - (2) 記録用紙の full scale が Transmittance の 1% 変化に当たるようなわずかな光量変化を低いノイズ水準で測ることができる。
 - (3) フィトクロム自身が、measuring beam によって光化学的変換を起こさないようにできるだけ弱くして、Photomultiplier その他の感度を可能な限り高めてある。
- などである。

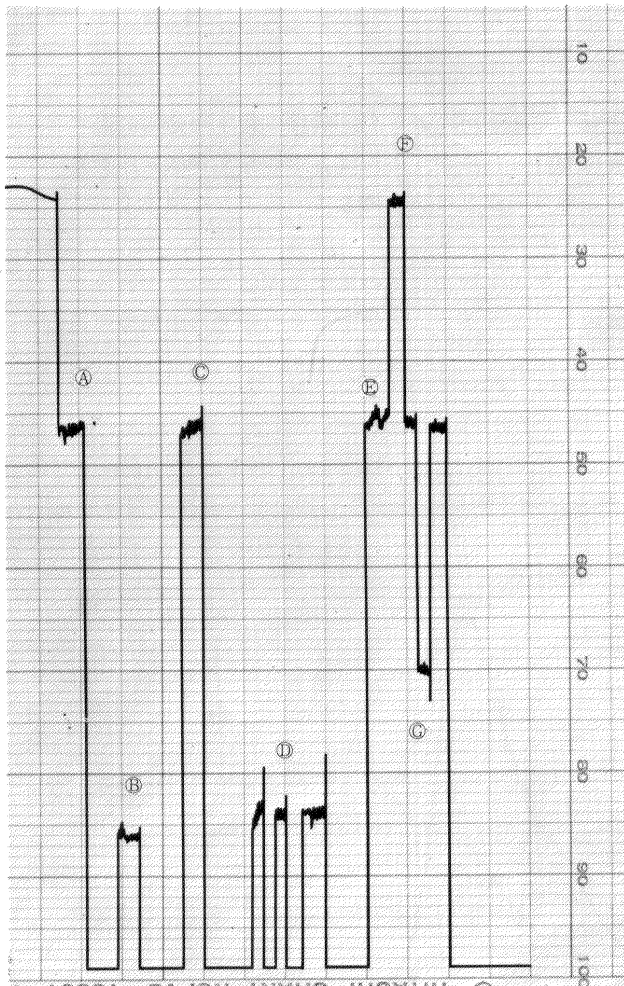


図2 イネ子葉鞘に含まれるフィトクロム測定の例
(660m μ と730m μ 間の二波長測光)

- ①、測定開始時のフィトクロムの状態
 ②、④、30秒間強い赤色2次光を照射したのちの値
 ③、⑤、30秒間強い近赤外2次光を照射したのちの値
 ⑥、⑦、 λ_1 、 λ_2 の100-99%Tのキャリブレーション

3. 測定結果

図2は、暗黒中で育てたイネの芽生えから子葉鞘先端3mm長の切片を作り、35切片(54.7mg fresh weight)を直径4mmの金属製キューベットに詰めて、0℃で測定した一例であり、図3は、このような測定方法によってイネ子葉鞘組織内における P_{FR} の暗失活の早さを測った一例である。

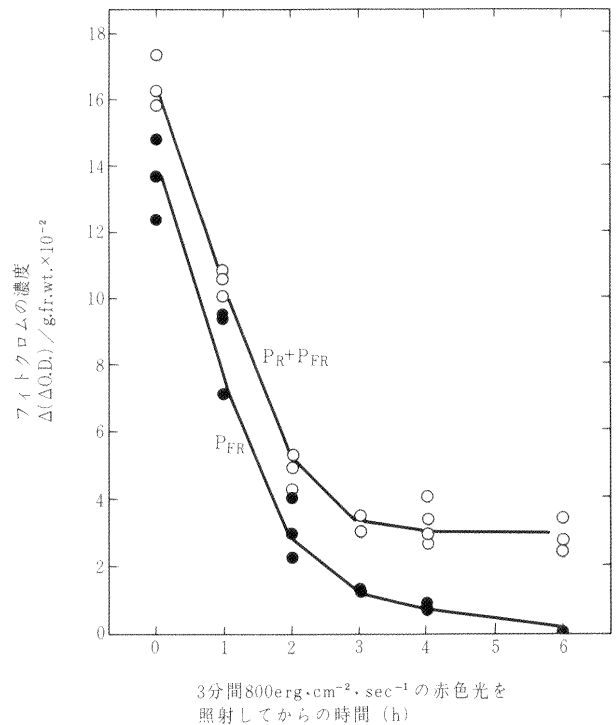


図3 イネ子葉鞘におけるフィトクロムの暗反応の測定(27℃)
(Pjon and Furuya, 1968)

4. む す び

フィルタ方式の261形二波長分光光度計の開発によって、フィトクロムが測定装置を外国から輸入しなくても測定できることは、わが国の光生物学に対する一つの貢献であるが、さらに、この経験が来たるべき多波長分光光度計の開発に生かされることを期待したい。また、この光度計は最も有効に二波長分光法の特長を生かしたフィトクロムの測定ばかりでなく、生化学反応系の差スペクトルの測定などに拡大利用されることと思われる。

二波長測光法の比色分析への適用

—356形 日立二波長／自記分光光度計の有用性—

柴田 正三* 古川 正道*

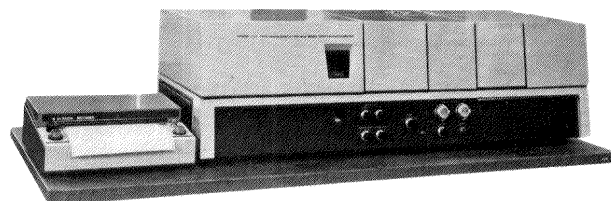
二波長分光光度法
すなわち、一つの試料
セルに異なった波長、
 λ_1 および λ_2 の単色光を
交互に照射して、その差
を検出、測定する方法
は、比較的早く1950年



柴田正三



古川正道



356形日立二波長／自記分光光度計

代の初期にペンシルバニア大学のB. Chanceによって導
入されて以来、高濃度生体試料あるいは混濁試料中での
測定という、研究対象の特殊性から、主として生化学の
分野で広く活用され現在にいたっている。すでに製品化
された装置として、Aminco 社の Aminco-Chance
machine, Phenix 社の Dualwavelength Scanning
Spectrophotometer などがある。

右上に356形 日立二波長／自記分光光度計の外観を示
した。

356形 日立二波長／自記分光光度計は、分光器内の二
枚のグレーティングを用いて、 λ_1 および λ_2 の単色光を任
意にセットできるようになっている。また λ_1 と λ_2 を同じ
波長にセットすれば、従来の自記分光光度計としても使

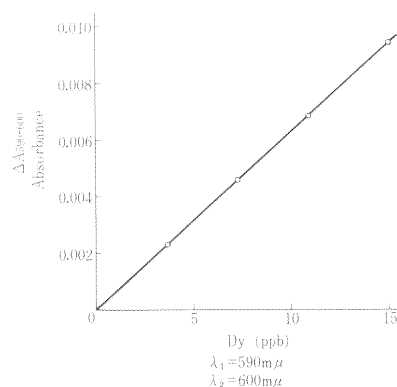


図1 カルボキシアルセナゾ法によるジスプロ
シウムの検量線
pH4.0 25% w/v アセトン溶液
カルボキシアルセナゾ $6.5 \times 10^{-5}\text{M}$

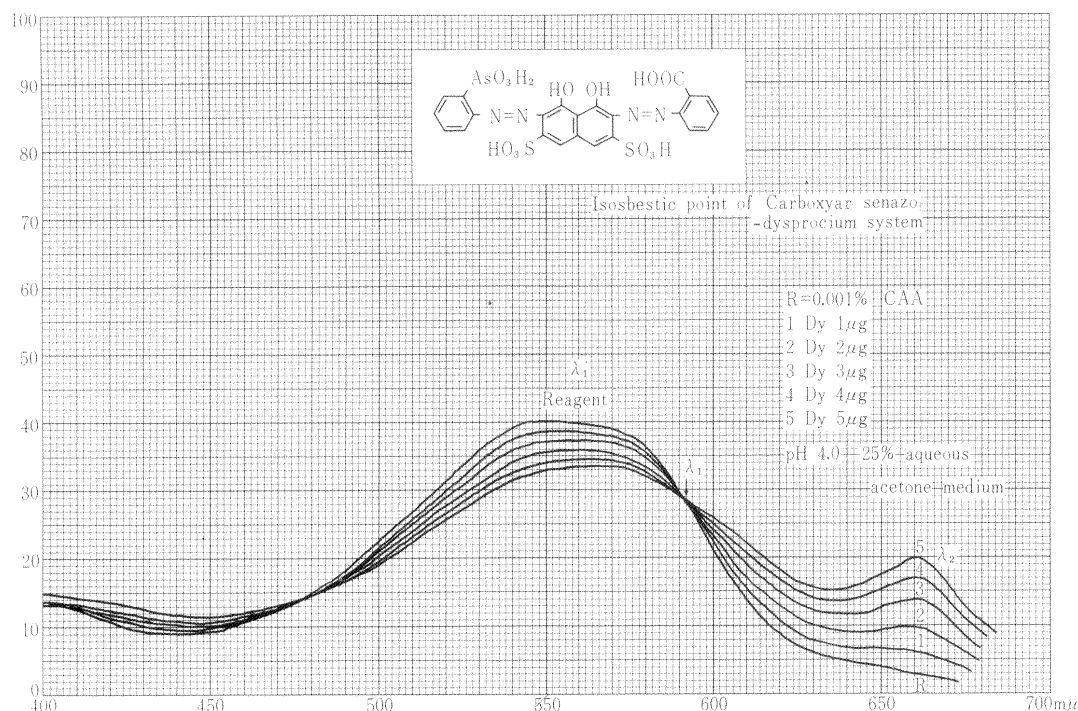


図2 カルボキシアルセナゾ—ジスプロシウム系の等吸収点

*工業技術院 名古屋工業技術試験所

用できる。 λ_1 と λ_2 の波長の単色光を一つのセルに照射することにより、セルに関する誤差をはじめ、参照液に関する誤差、濁りによる光散乱などの諸因子の影響を受けにくいことが大きな利点である。二波長測光法の分析化学への導入に当たってはいろいろな適用分野が考えられるが、関係文献が皆無であることなどから、最も初歩的な適用例を示した。

1. 定量限界の拡大

極微量分析においては、測定法の問題よりもむしろ試料調製に関する試薬、水などの純度、容器その他のむずかしい問題の解決が大きな仕事であるが、ここではこれらの諸問題と直接関係なしに、また参照溶液を作らなくてもよいという利点をふまえたうえで、実験結果を示す。比色分析においては、現在理想の値に近い分子吸光係数を有する無機金属イオン用呈色試薬がつぎつぎと発見されている。あるいはXO-La-CPB^{*}のように18万台の分子吸光係数を有するternary complexなども報告されている。このような、高感度呈色試薬と本装置を組合せれば、PPb.の比色分析も、容易になることが推測されよう。図1にカルボキシアルセナゾを用いるジスプロシウムの比色分析における吸光度0.01フルスケールでの検量線を示したが、非常にすぐれた直線性が得られた。

$\lambda_1 - \lambda_2$ の選定

$\lambda_1 - \lambda_2$ の選定はどこでもよいわけではない。以下にその代表的な選び方を示す。

第一の方法は、図2(前ページ)に示したように反応系に明りような等吸収点が存在する場合は、 λ_1 としてこの点の波長を選び、 λ_2 としてキレート(測定物質)の最大吸収波長を選ぶことである。

しかし、ここで注意すべきことは、もし吸光度0.01フルスケールのような測定をしようとする場合、この等吸収点波長が正確に求められないならば、それに起因する誤差が著しく大きく定量不能となることである。

特に図3(a)(b)に示したアルセナゾIII-トリウム系のように等吸収点前後の吸収曲線の傾斜が急な場合ほど、この位置のわずかなずれによる誤差はきわめて大きい。

もっとも、このような場合でも通常の測定範囲ではすぐれた直線性をうることができる〔図3(b)参照〕。

第二の方法は、適当な等吸収点が求められない場合、 λ_1 にキレートの最大吸収波長を、 λ_2 にキレートの吸収のすそで任意の波長を選ぶ。図3(c)がその例である。

第三の方法は、試薬の最大吸収波長を λ_1 に、キレートの最大吸収波長を λ_2 に選ぶことで、図3(b)がその一例である。この場合はキレート反応による試薬の減少とキ

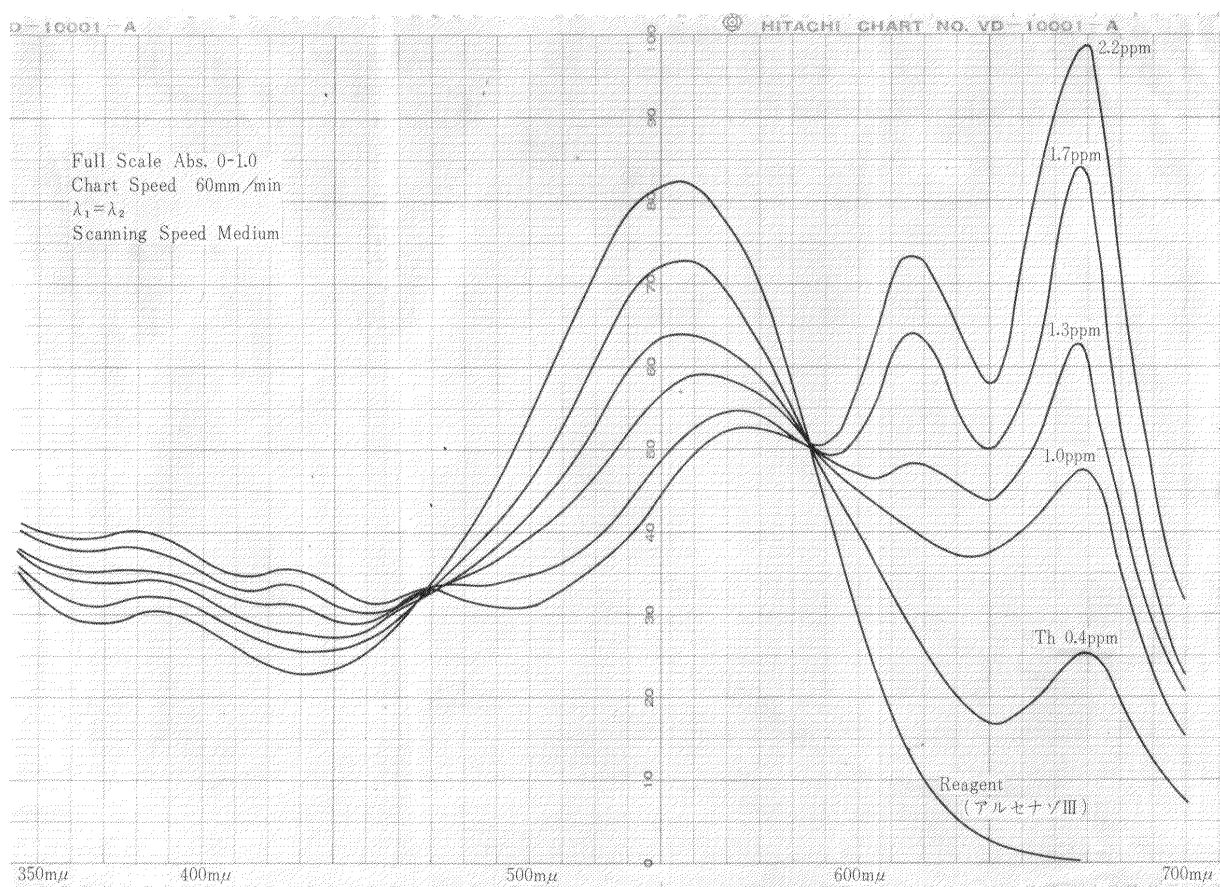


図3 (a) アルセナゾIII-トリウムキレートの吸収曲線(8N-HCl solution)

* キシレノールオレンジ-ランタン-セチルピリジニウムブロマイド

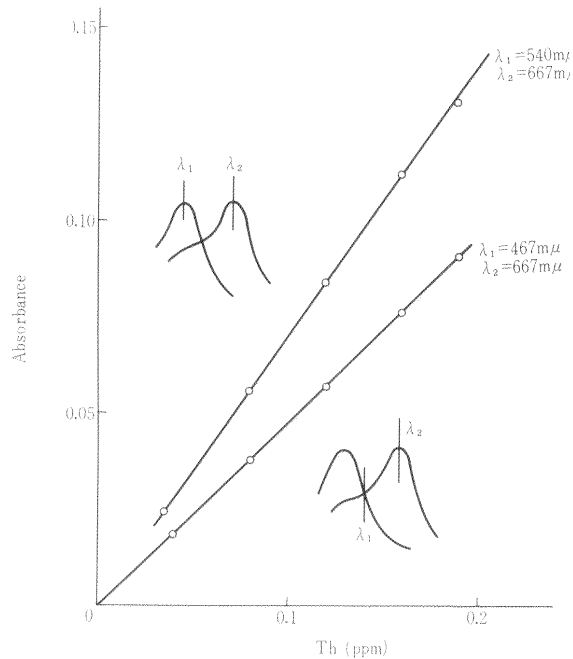


図3 (b) アルセナゾIII法によるトリウムの検量線

レート生成による吸光度の変化が和となって検出されるわけで、見かけの感度はさらに大きくなる利点をもっている。

このように定量下限の拡大とともに、二波長測光という特長から逆に吸光度3というような高濃度試料中の微小吸光度変化も測定可能である。

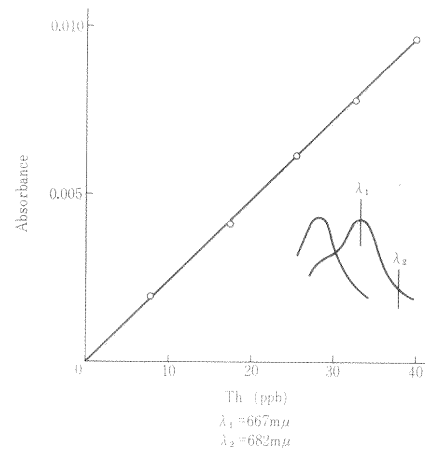


図3 (c) アルセナゾIII法によるトリウムの検量線

2. 妨害成分のマスキング

本法の特長の一つは妨害成分の測定上でのマスキングである。その例として、比較的単純な系、過塩素溶液中における多量コバルト共存下のニッケルの定量、およびオキシニ抽出における多量鉄共存下のアルミニウムの定量について述べる。図4(a)は過塩素酸溶液中でのコバルト(II)およびニッケル(II)の吸収曲線である。この場合 λ_1 としてニッケルの最大吸収波長を選ぶのには問題ないが、 λ_2 の選定を考慮する必要がある。すなわち、本装置の現在の機能からいって、コバルト量の任意の変化に起因する λ_1 および λ_2 の吸収変化の大きさがほぼ等しいよ

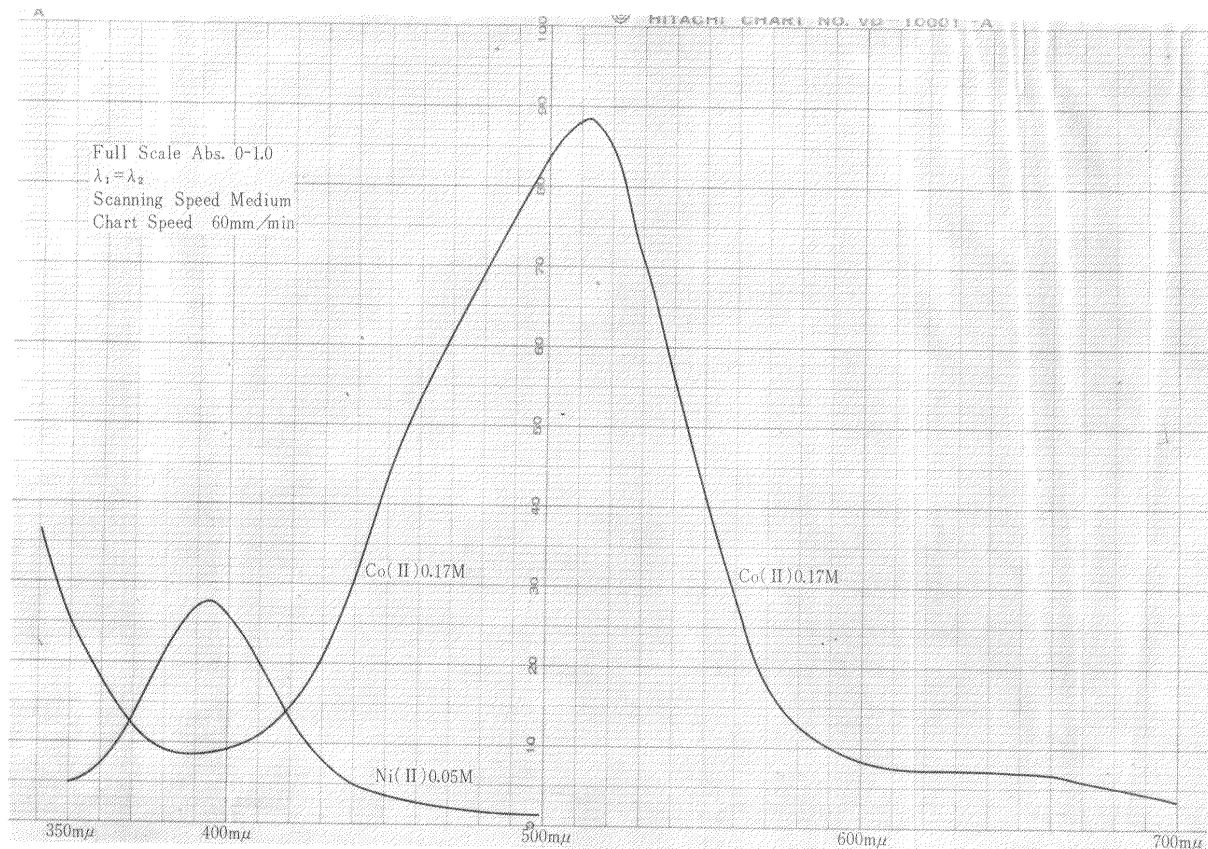


図4 (a) ニッケル(II)およびコバルト(II)の過塩素酸溶液中での吸収曲線(2N-HClO₄溶液中)
Abs. 0-1.0

うな λ_2 を選ぶのが理想的である。

ところで、この λ_2 の選定は技術的にむずかしいことではない。その方法は、変動すると思われる最大量のコバルトを共存させた試料aとニッケルのみの試料bを用いて、推定波長前後で何回か測定を行ない、両者が一致する波長 λ_2 を選び出せばよい。図4(b)にこの場合の実測例を示したが、620—397m μ の組み合わせが決定された。本法によって、少なくとも50倍のコバルトが妨害し

ないことを確認したが、さらに高濃度でもマスターできると考えられる。

つぎに、図5(a)に鉄およびアルミニウムオキシンのクロロホルム抽出の吸収曲線を示した。前と同様の方法で λ_1 および λ_2 を選定した測定例が図5(b)であり、この場合 388—500m μ が選定された。図5(c)には、共存する多量の鉄の量を任意に変化させて求めたアルミニウムの検量線で、鉄の影響は全くない。

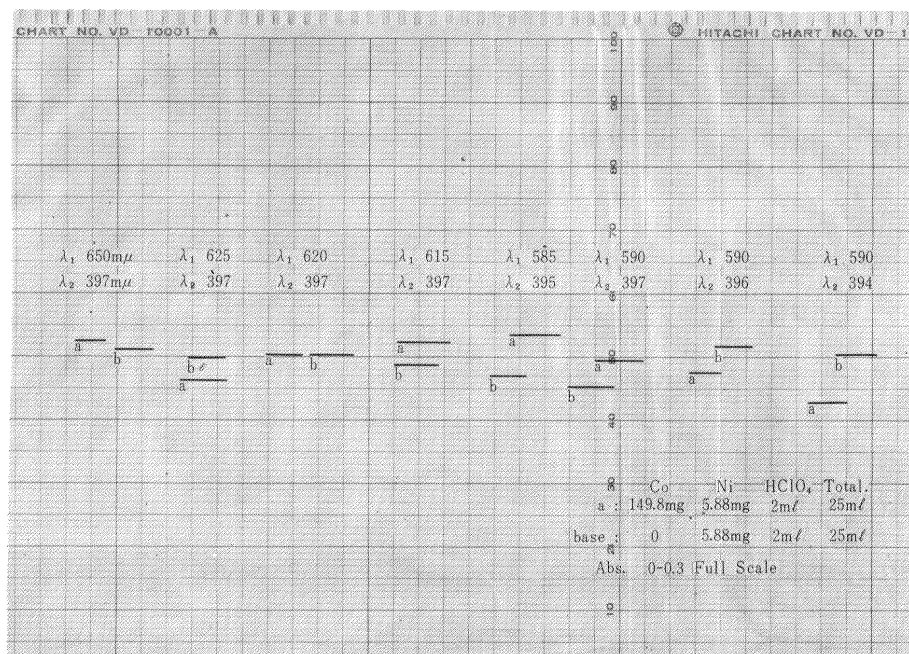


図4(b) Co-Ni λ_1 — λ_2 の選定

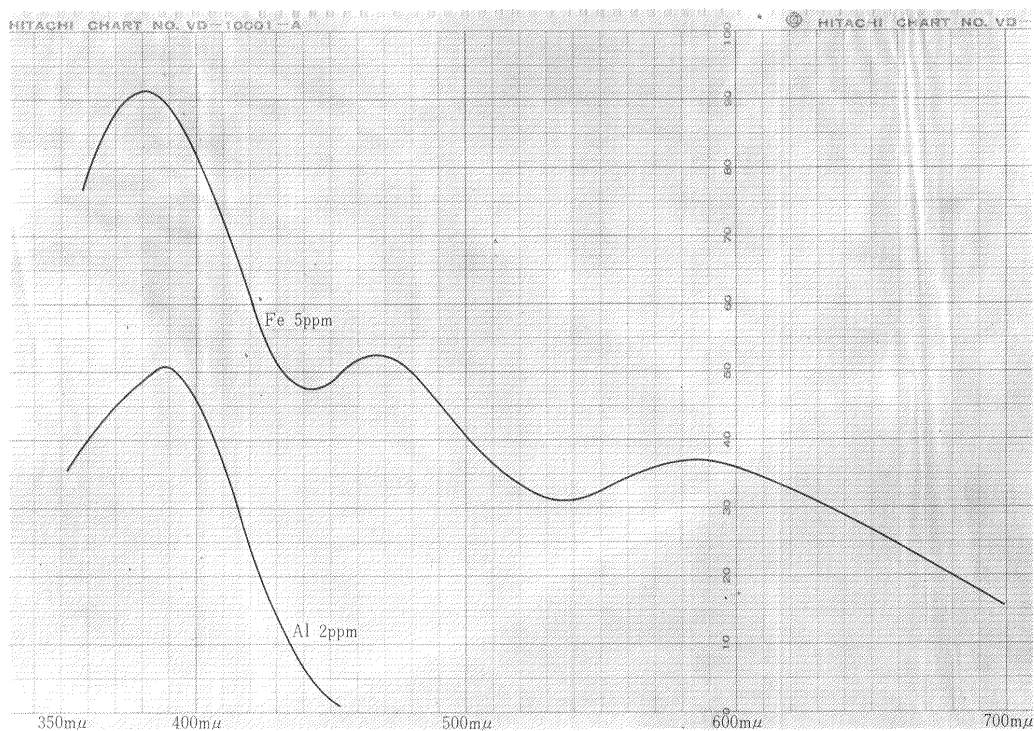


図5(a) 鉄およびアルミニウムオキシネートのクロロホルム溶液中の吸収曲線 Abs. 0—1.0

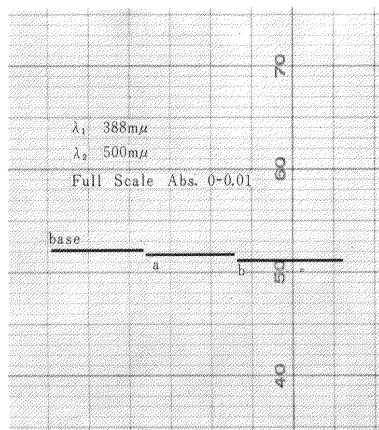


図5 (b) Al-Fe
 $\lambda_1 - \lambda_2$ の選定

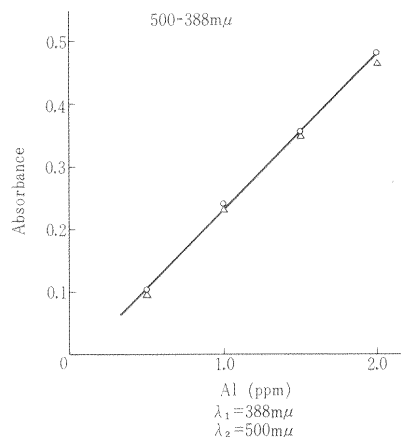


図5 (c) オキシソクロホルム抽出によるアルミニウムの検量線
—○—○— アルミニウム単独
—△—△— 多量の鉄の共存下

3. 沈でん存在下での比色分析

具体的な実験例は省くが、妨害成分を分離せずに、混濁液のまま比色することも可能である。

4. 接触反応，誘発反応，光化学反応などの利用

さらに接触反応，誘発反応などを利用する分析法，および反応速度を利用する分析法，またその際，光化学反応を併用するような場合特に有用である。図6に示すように，照射光源を置き，セルの側面から光を照射することにより，光化学反応の追跡，極微量成分の蛍光励起なども考えられ，非常に応用面が広く興味ある分野であろう。

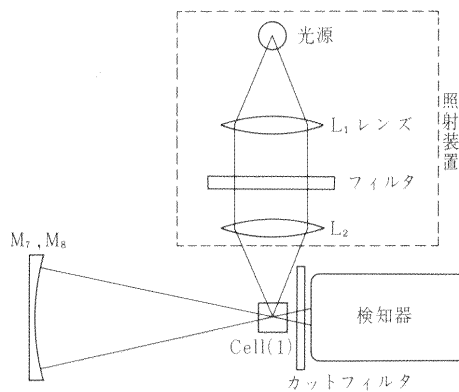


図6 356形日立二波長／自記分光光度計付属照射装置

5. その他

直接，分析とは関係ないが， $\lambda_1 - \lambda_2$ の波長差を小さくして走査すればいわゆる微分スペクトルが得られ，反応の追跡，反応成分の同定，その他いろいろな知見が得られよう。たとえば，図7は図2(a)の微分スペクトルである。また，交換反応を利用する金属錯体の生成定数の測定の際，有用な測定機器となりうる。

おわりに

新しいものにすこぶるどん欲なわが国分析化学界の現状を思うと，本法の分析化学への導入が今まででなされなかったのは不思議なくらいであるが，一つには原子吸光法をはじめとするはなやかな手法の消化に夢中で，このような地味な，しかも可能性の未知な方法に目を向けることもなかったのであろう。事実，本法の分析化学への適用は皆無といってよく，全くの未知数ではあるが，本装置が通常の自記分光光度計としての十分な性能を有することも考え合わせれば今後化学反応の追跡など実用面での活躍が期待される。

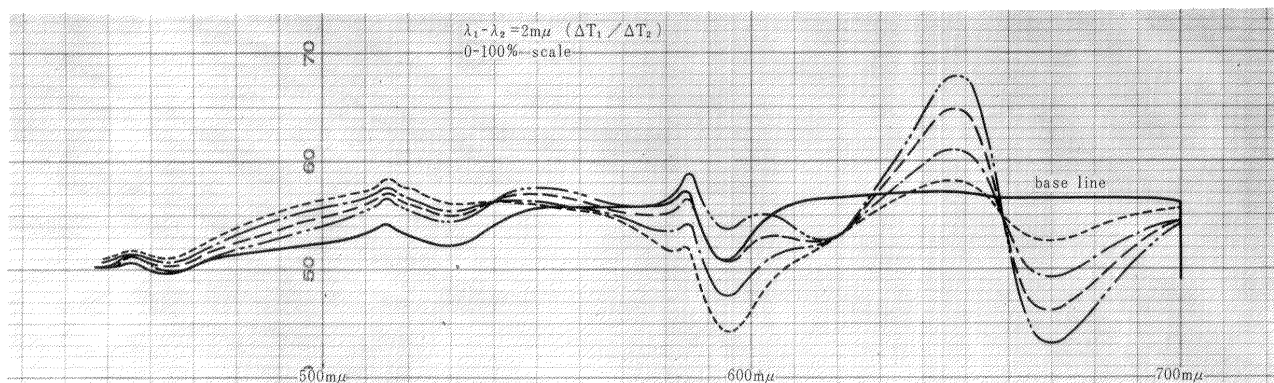


図7 図2の微分スペクトル
 $\lambda_1 - \lambda_2 = 2 \text{ m}\mu \left(\frac{\Delta T_1}{\Delta T_2} \right)$
0-100% scale

356形 日立二波長／自記分光光度計による 二、三の測定例

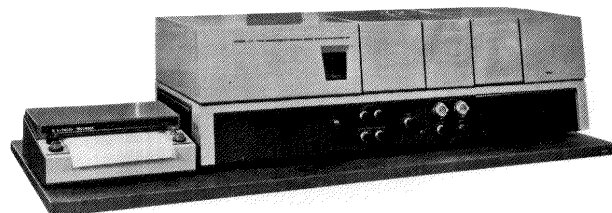
小 森 律 夫*

1. 緒 言

近年機器分析の普及は目ざましいものがあり、中でも、吸光分析法は各分野で広く用いられている。特に最近の傾向としては、研究内容の複雑化につれて、試料の取扱いが問題となっており、生化学、医学、高分子化学などの分野では、試料は透明とは限らず、むしろ、諸制限により混濁のまま測定することが要求されるようになってきている。また、微量試料、高価な試薬などを使用することが多く、吸光度スケールの拡大が望まれるにいたっている。

これらの諸問題の解決のためには、種々の方法が考えられているが、二波長測光法は、その一つの手段として、きわめて有効な方法である。二波長測光法は、二つの単色光 λ_1 、 λ_2 を一つのセルの同一位置に交互に照射し、その差吸光度（または差透過率）を測光する方式である。

二波長測光法は、アメリカ ペンシルバニア大学のB. Chance 教授により開発された。このほど、日立製作所では、356形 二波長／自記分光光度計の製品化に成功したので、本機の特長と本器を使用して二、三の測定例について述べる。



356形日立二波長／自記分光光度計

2. 特 長

- (1) 混濁試料、透明試料にかかわらず、わずかな状態変化でもフルスケールAbs. 0.01で安定に測定できる。
- (2) 混濁試料が安定よく測定できる。一般に、混濁状態では時々刻々濁り自身に変化するものが多いが、二波長測光法によれば、一つのセルの同一面に交互に λ_1 、 λ_2 の単色光を照射するので、濁りの変化を相殺でき、その影響を防ぐことができる。
- (3) 微分スペクトルの測定ができる。二つの波長が任意にセットできるので、 $\Delta\lambda$ を設定し、波長走査を行えば、波長に対する微分値が記録できる。このため吸収スペクトルの急峻な部分にあるショルダの波長位置の確認、及び定量、極大吸収位置などが容易にわかる。
- (4) 二つの単色光 λ_1 、 λ_2 を同一波長に合わせれば、自記分光光度計として使用できる。検量線は、 KMnO_4 水溶液において、吸光度3程度まで直線であり、吸光度3以上も測定可能である。
- (5) 試料室は長さ170 幅230 深さ190 (mm)で十分大きく、低温セル、恒温セル、などのセットが容易ある。二次電子増倍管は取りはずし可能であり、下部、上部と任意の位置にセットできる。
- (6) セル側面から照射光を当てながら、吸収スペクトル、の測定ができる。

また、二つの波長において、別々の吸光度変化を別に測定できる。などの特長をもち、今後の活用が期待される。

3. 測 定 例

(1) yeastの測定

蒸留水に懸濁したBaker's yeast (60g/100ml)を10 mmセルに入れて試料側光路にセットし、対照側光路には蒸留水を10mmセルに入れその裏側には、ろ紙8枚(東洋ろ紙製No.1)を重ねて置き、自記分光法によって測定した。その結果を図1に示した。

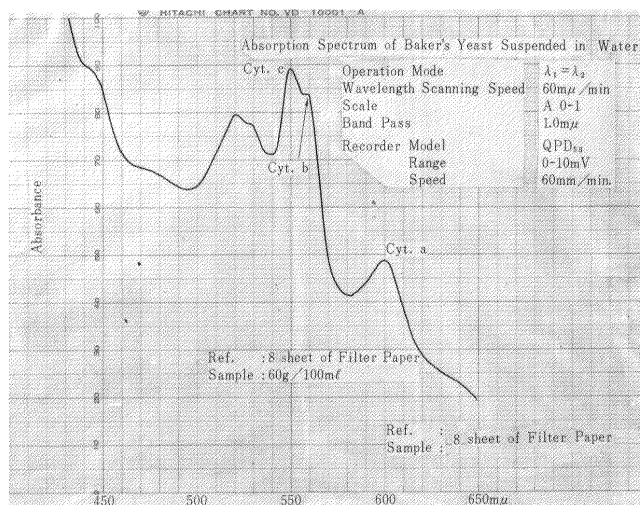


図1 Baker's yeast の吸収スペクトル(自記)

*日立製作所 那珂工場 応用開発課

周知のように、この程度の懸濁液は粘度が高く、ほとんど不透明体状を呈している。したがって、対照側に蒸留水だけでは、短波長側での散乱のために著しいバックグラウンドを有するから、これを補正するためにろ紙を入れた。この記録から明らかなように、高濃度混濁度液中のチトクロム成分(Cyt.a,b,c)の吸収ピークがはっきりと識別されている。また、対照、試料側光路に、ろ紙を8枚重ね合わせた状態でAbs.Oラインを記録した。よく補償され、ベースラインはほぼ直線である。

図2にはyeast 30g/100mlをベースにした差スペクトルを記録した例を示す。Cyt. cのピーク位置(550m μ)にて、濃度に対する吸光度の関係はほぼ比例していることがわかる。

つぎに、二波長測光法により上記試料の測定を行なった。図3にyeastの吸収スペクトルを示したが、いまCyt. cの定量を行なう場合、Cyt. cの吸収ピーク $\lambda_1=550\text{m}\mu$ 、ベース位置として吸収の谷である $\lambda_2=582\text{m}\mu$ を選定固定する。このようにして、peak-troughペア $\Delta A_{550-582}$ と濃度の関係を記録したのが、図4である。この操作は、自記分光測定(レバーSplit位置)から二波長測光法(レバーDaul位置)へ簡単に切替えることができる。同時にセルホルダを二波長用(セル1コ装着)に置き替えればよい。最初、蒸留水を10mmセルに入れてベースラインを記録し、逐次濃度を変えて記録計のチャート送りをonにし、その濃度での差吸光度を記録した。

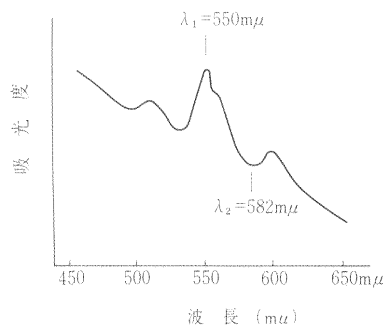


図3 Yeastの吸収スペクトル

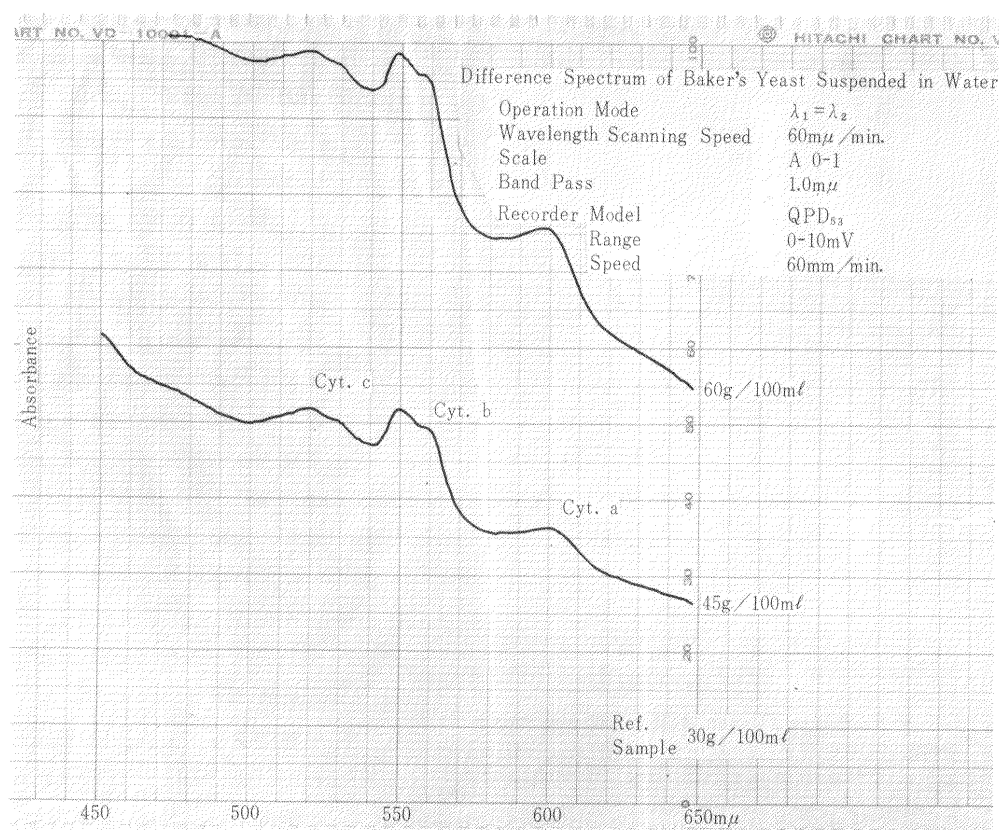


図2 Baker's yeastの差スペクトル(自記)

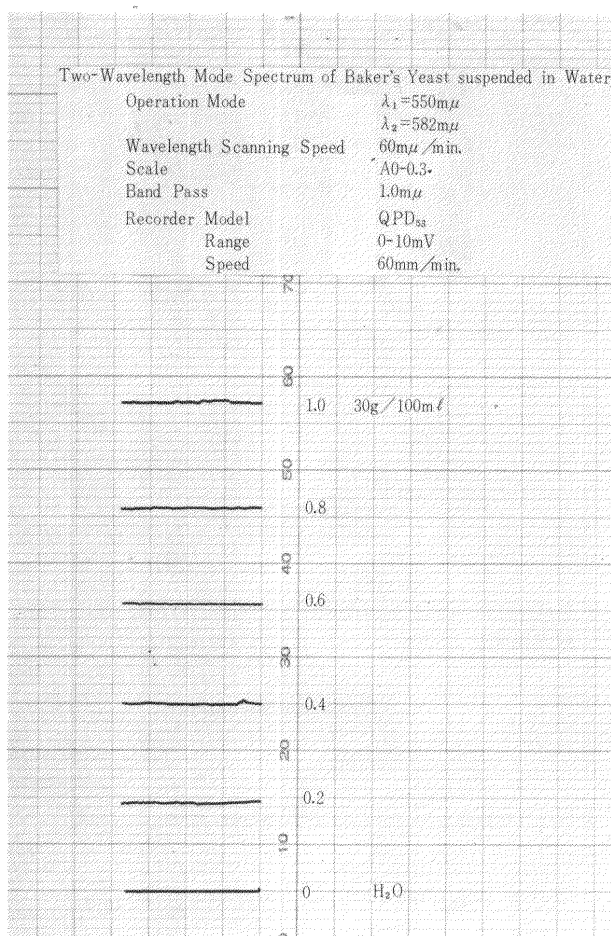


図4 Baker's yeastの定量(二波長測光)

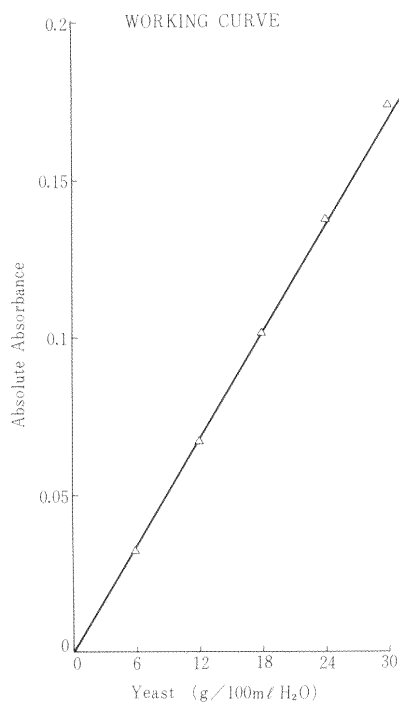


図5 Baker's yeast の濃度と吸光度の関係

以上の結果を整理したのが図5である。濃度に対する差吸光度はほぼ直線であり、混濁液中の指標成分の定量が高精度で測定できることが明らかである。二波長法は

にごりの影響を本質的に受けにくいから混濁試料では特に効果的であることがわかる。

(2) 吸光度 0-0.01による測定

二波長測光法の特長の一つに拡大スケールの使用があげられる。

一般の自記分光光度計では、拡大スケールはAbs. 0-0.1が限度と考えられる。これは、対照、試料光路に2コのセルを使用するために、セルの誤差、セル位置の再現、溶液中のわずかな浮遊物の影響などが誤差の原因となるためである。二波長測光法は、1つのセルの同一位置に同一面積の光束が交互に照射されるから、上記のようなセルに関する誤差は除外できる。また混濁試料では、一般に“にごり”は変化するものであるから、2コのセルの使用では条件を合致させるのは、なかなかむずかしい。特に微小吸光度ではこの影響は無視できないと考えられる。二波長測光法では、これらの諸要素が除けるので、0.01フルスケールの測定まで可能となるのである。

最近の生化学や分析化学の分野では、微量試料の測定が要望されており、また、わずかな吸光度の変化を追跡したい場合などに有用と思われる。

図6には、KMnO₄水溶液を用いて吸光度0.01スケールの直線性を検討した例を示した。

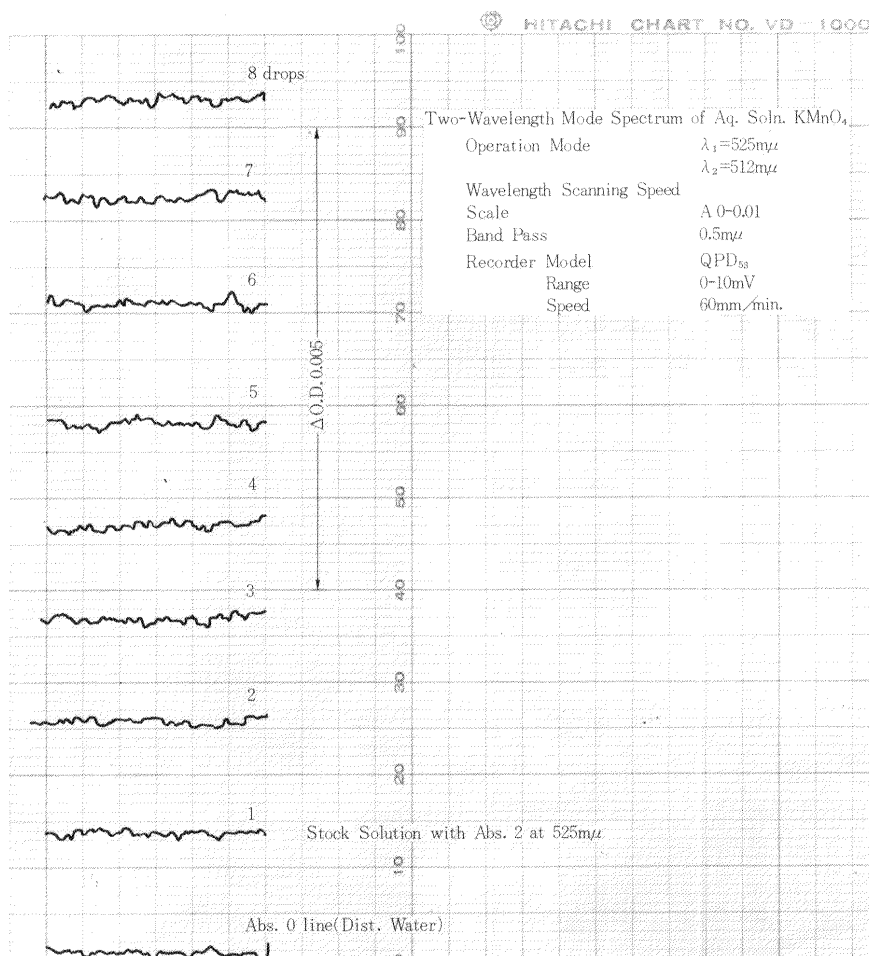
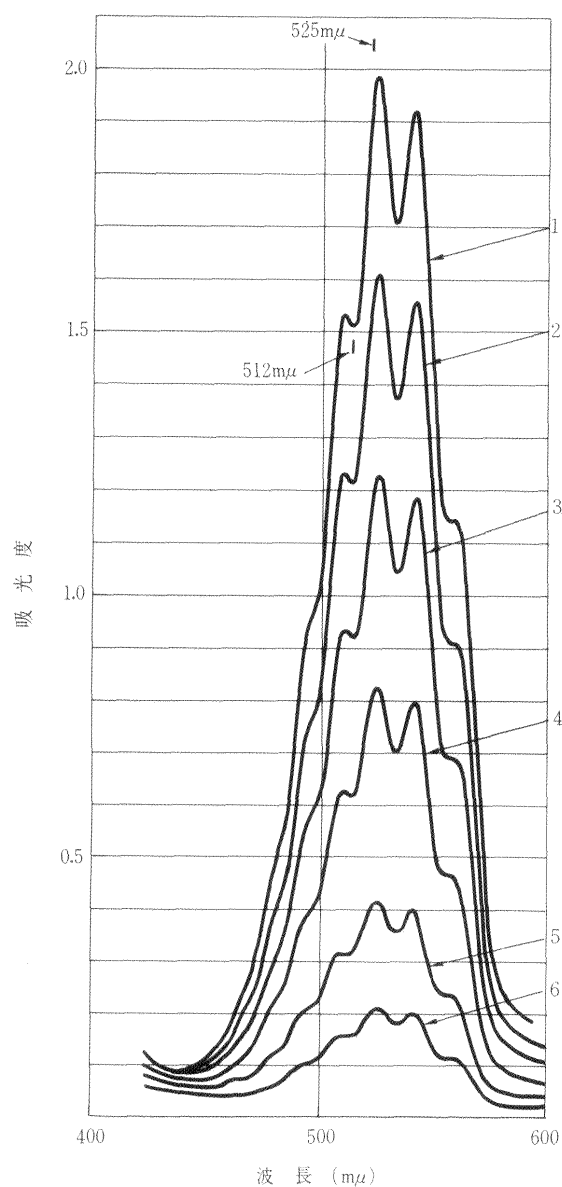


図6 吸光度0.1スケールによるKMnO₄水溶液の濃度と吸光度の測定(二波長測光法)

図7 KMnO_4 水溶液の分光特性

周知のように、 KMnO_4 水溶液の可視域での吸収スペクトルは、図7に示すような分光特性を示している。 λ_1 を最大吸収ピーク $525\text{m}\mu$ に、 λ_2 を近接した吸収の谷 $512\text{m}\mu$ に選び、その差吸光度を測定した。まず、蒸留水 3ml をセルに入れ、ベースラインを記録しておき、つぎに KMnO_4 水溶液 $134\text{mg}/\ell$ (Abs. 2 相当) の原液を作製しておいてマイクロピペットで $15\mu\ell$ (1 滴) 加えて混合かくはんし記録した。わずかな吸光度変化を示し、その値はAbs. 0.0013である。同様に、逐次原液を加える量を変えてそれぞれの吸光度変化を記録した。図8に加えた量と吸光度の増加の関係を示す。図によると、よく直線性が保たれていることがわかる。

同様に、図9には原液—Abs. 2 相当—をベースとして、前回とは逆に蒸留水で希釈した場合を示した。(二波長選定は $\lambda_1=535\text{m}\mu$ 、 $\lambda_2=525\text{m}\mu$) 3ml の原液中に、蒸留水をマイクロシリンジで $20\mu\ell$ 加え、混合かくはんし希釈した場合の吸光度の減少を記録した。 $\Delta A_{525-535}$

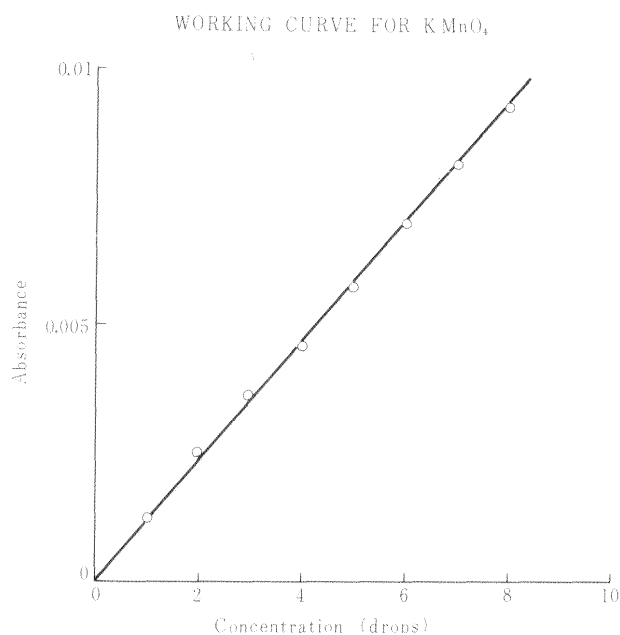
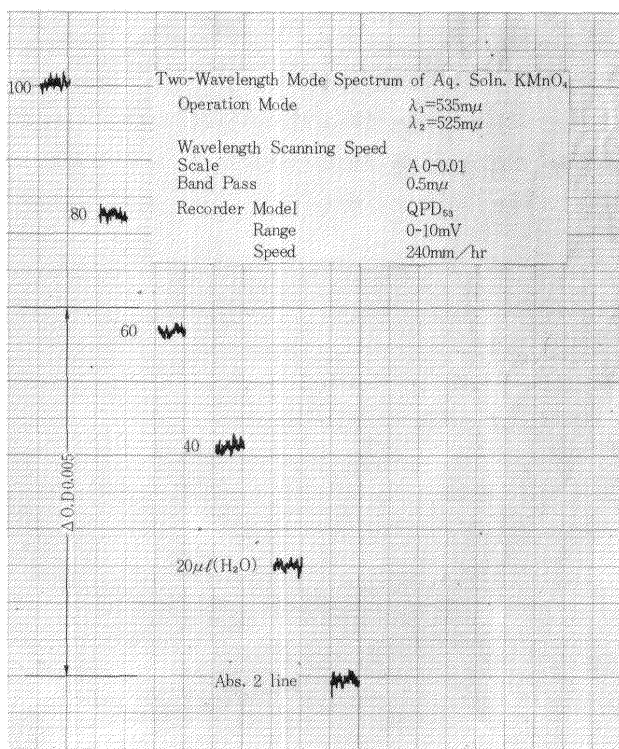


図8 吸光度0.01スケールによる濃度と吸光度との関係

図9 吸光度0.01スケールによる吸光度2の KMnO_4 水溶液を蒸留水で希釈した場合の測定(二波長測定法)

peak-Trough ペアで吸光度0.0015変化したことを示している。同様に、蒸留水を加える量をそれぞれ変えて吸光度の減少を記録した。

図10に希釈に加えた蒸留水量と吸光度変化の関係を示した。

以上のように、フルスケール0.01レンジを使用して、高濃液中のわずかな吸光度の変化が精度よく測定できるから、精密分析への適用が可能であることが判った。

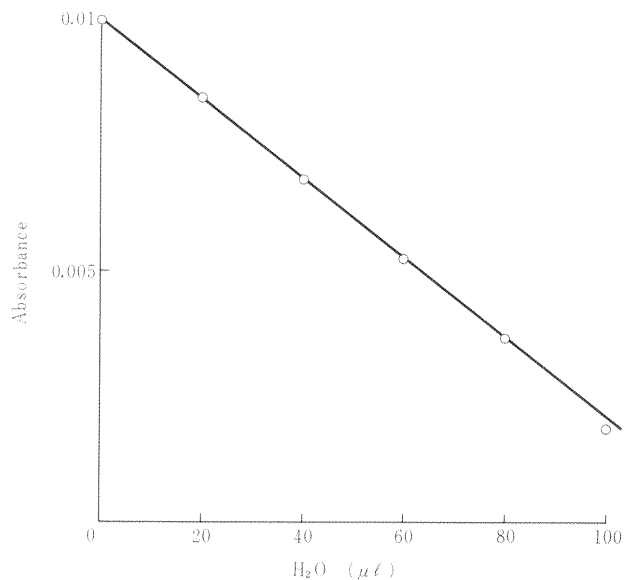
WORKING CURVE FOR KMnO_4 

図10 吸光度0.01における濃度と吸光度の関係

(3) 微分スペクトルの測定例

微分スペクトルは、吸収スペクトルの急しゅんな部分におけるショルダ部の波長確認および定量や、吸収スペクトルでわずかに分れている部分の分離の有無についての確認、または極大吸収位置の決定などに有用である。

図11 (a)(b) にウマ心筋イースト、チトクロムcの酸

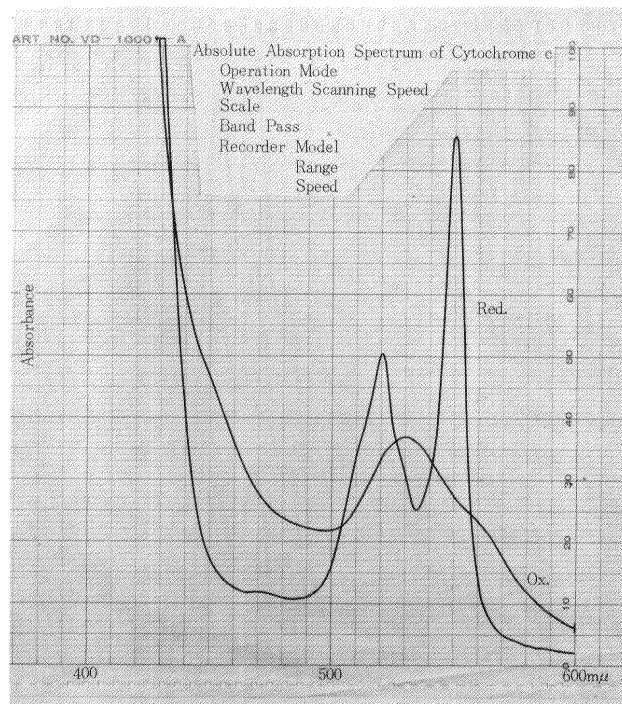


図11 (a) チトクロムcの酸化、還元形スペクトル(自記)

化、還元型の吸収スペクトルを示した。同図 (a) は微分スペクトルの測定に使用した試料の吸収スペクトルを、同図 (b) は約1/5希釈して、波長 600-340mμ 間の可視全域の記録を示す。

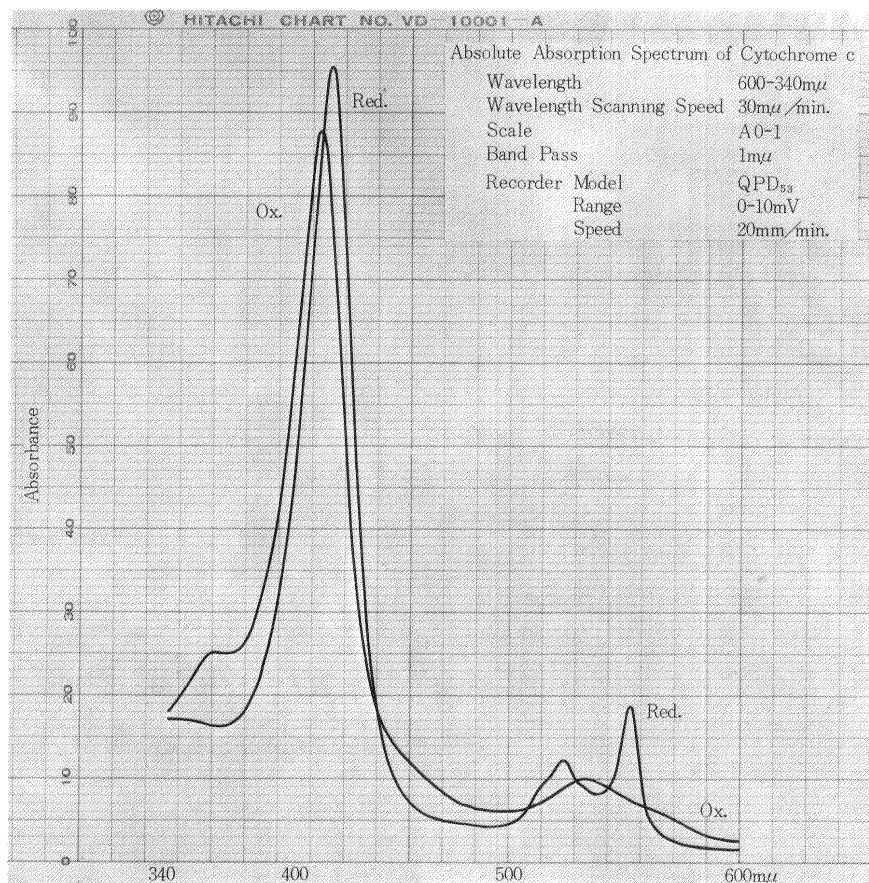


図11 (b) チトクロムcの酸化、還元形スペクトル(自記)

図12, 13に上記試料を微分スペクトルで測定した結果を示した。二つの波長目盛間隔を $\Delta\lambda = \lambda_1 - \lambda_2 = 1\text{ m}\mu$ に設定し、波長走査を行なった。二波長測光法では、 λ_1 と λ_2 を任意にセットできるから、 $d\lambda$ の値は任意に決められる。このように、試料に照射する単色光の間隔を設定し、固定して波長走査させれば、波長に対する吸光度の変化が、差吸光度 dA として記録できる。まず、ベース（この場合蒸留水）を、つぎに、試料を10mmセルに入れて記録した。したがって、ベースラインからの読みが $dA/d\lambda$ の値を示している。事実、吸収スペクトルから任意の波長

におけるカーブに接線を引いて作図により求めた計算値と実測した微分値とはほぼ合致しており、二波長測光法による微分スペクトルが正しい値を示すことがわかった。

図11(a)の吸収スペクトルでは400~420 $\text{m}\mu$ 間の γ 帯の吸収の記録がないが、図11(b)の形からAbs 4.5に達すると思われるが図12はこのような吸光度の大きなところでも微分スペクトルが測定できることを示している。なお、図13には、Abs.スケール0~0.3を使用して拡大記録した結果を示す。

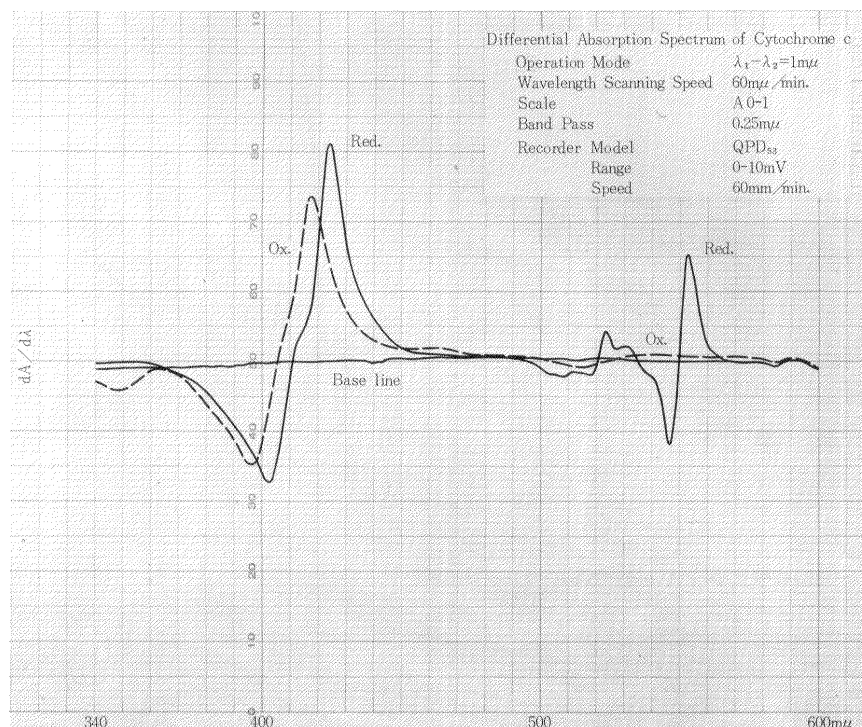


図12 チトクロムcの酸化、還元形
微分スペクトル
(二波長測光法)

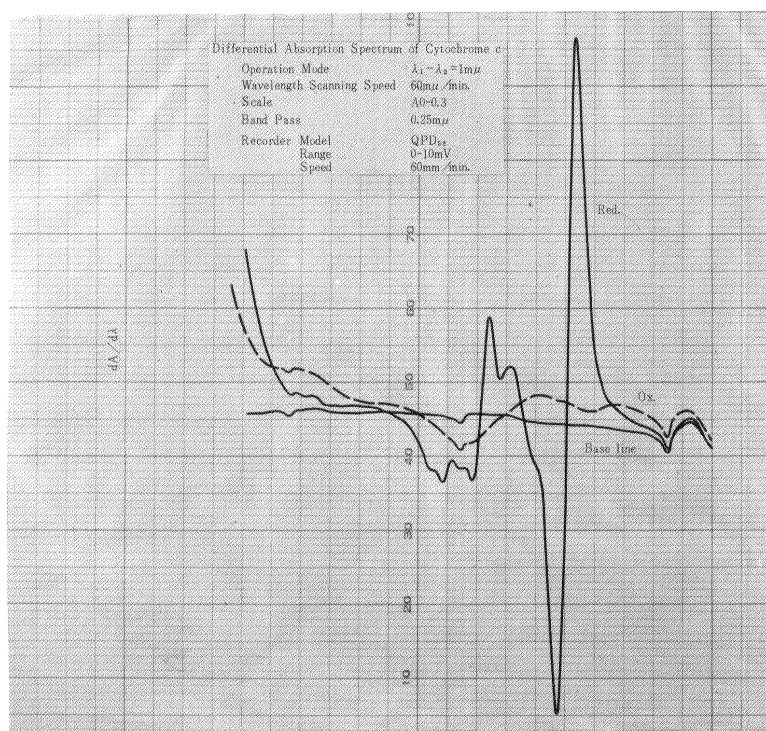


図13 チトクロムcの酸化、還元形
微分スペクトル(二波長測光法)

図14、図15には、ネオジウムガラスフィルタを使用し
て微分スペクトルを記録した結果を示す。620~586m μ
間には、ショルダが4カ所あるが、透過率特性では判然

としない。しかし、微分スペクトルで測定すればショル
ダこう配の程度が判然とし、その数も明りょうにわかり、
定量も可能であることを示している。

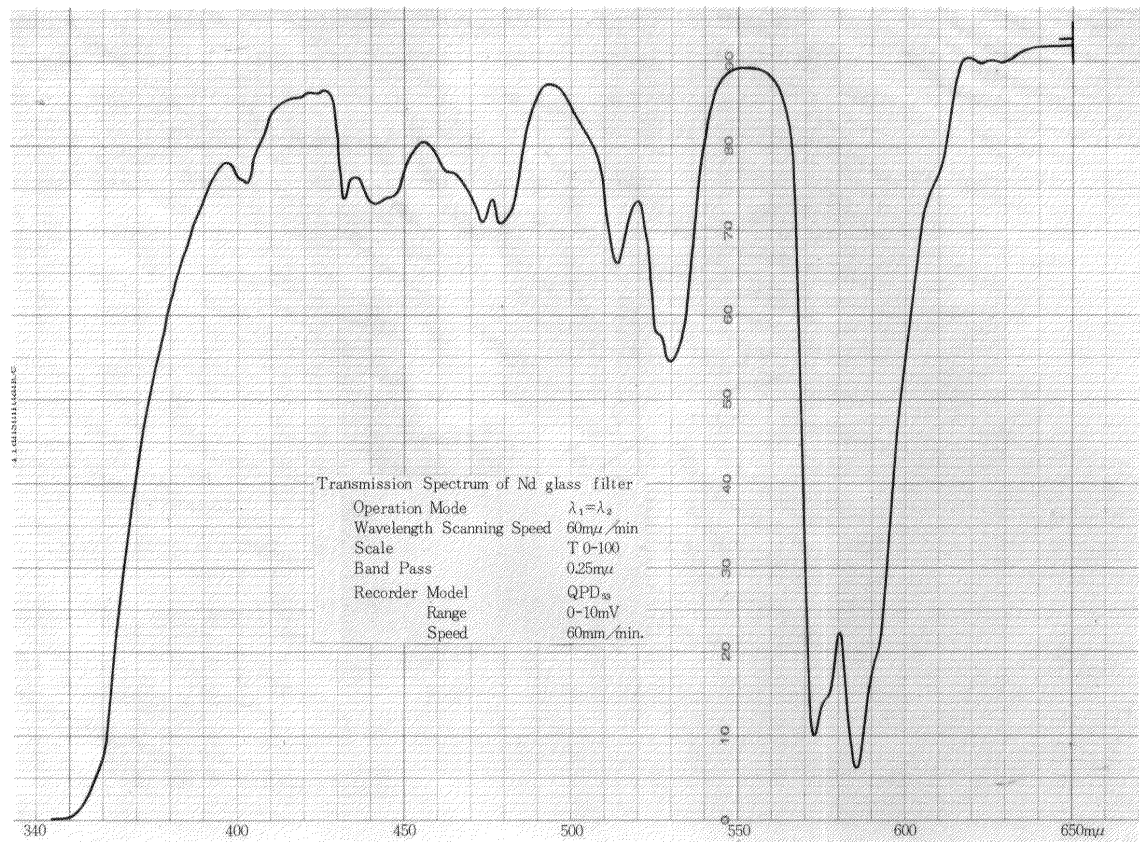


図14 Ndガラスフィルタの透過スペクトル(自記)

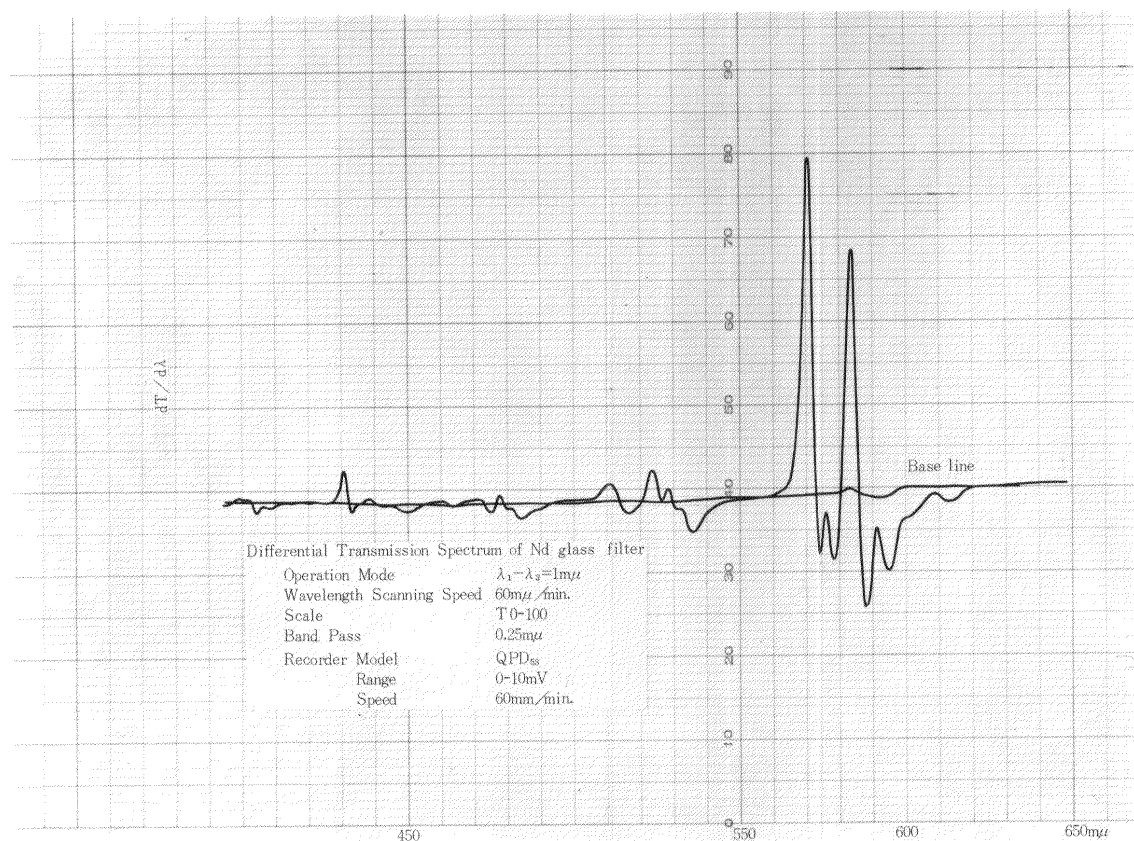


図15 Ndガラスフィルタの微分スペクトル(二波長測光法)

(4) 反応速度の測定

生化学または化学分析で、反応生成物による一定波長の吸光度が定量的に変化するときには、分光光度計が用いられるが、例としてチトクロムcによる酸化還元反応でその応用例を示す。図16からチトクロムcの酸化還元スペクトルには、600~500m μ 間に、4つの等吸収点があることがわかる。このような場合には、二波長測光法が有用である。すなわち、 λ_1 を反応のいかににかかわらず吸光度の変わらない等吸収点に選り、 λ_2 には反応する波長を選定すれば、反応速度が追跡できる。

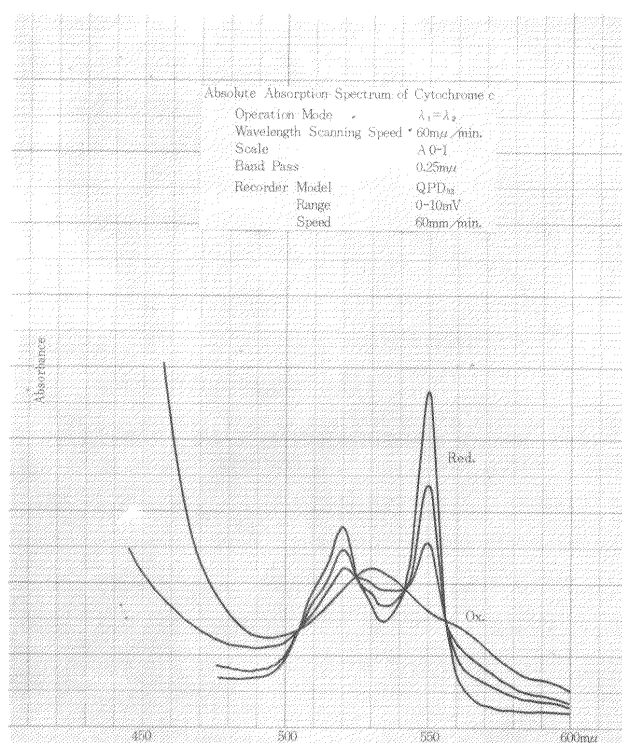


図16 チトクロムcの酸化還元形スペクトル(自記)

図17に還元能力を測定した結果を示す。反応液を適当に調整し、酸化形チトクロムcに0.04mlをすばやく混入かくはんし、ふたをして、反応がスタートすると同時に記録計QPD53形のチャート送りをonにする。反応液の濃度を段階的に変えて、還元されるチトクロムcによる波長550m μ における吸光度の増加を記録した。

これから一定時間後の吸光度は、還元剤量に必ずしも比例しないが、反応曲線から原点を通る接線を引いて初速度を求めれば、図18に示すように、ほぼ比例関係にある。

この例は、つぎのような場合の測定が可能であることを示している。すなわち、ミトコンドリアの吸収スペクトルは図19のようになろう。

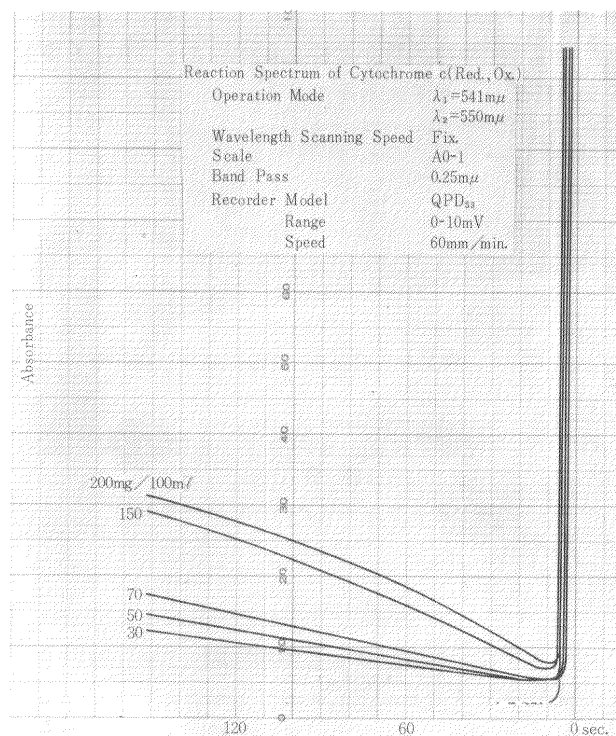


図17 チトクロムc還元反応の測定(二波長測光法)

Relationship between Absorbance and Quantity of Reduction Reagent

Hydro.-Cytochrome c (Ox.)

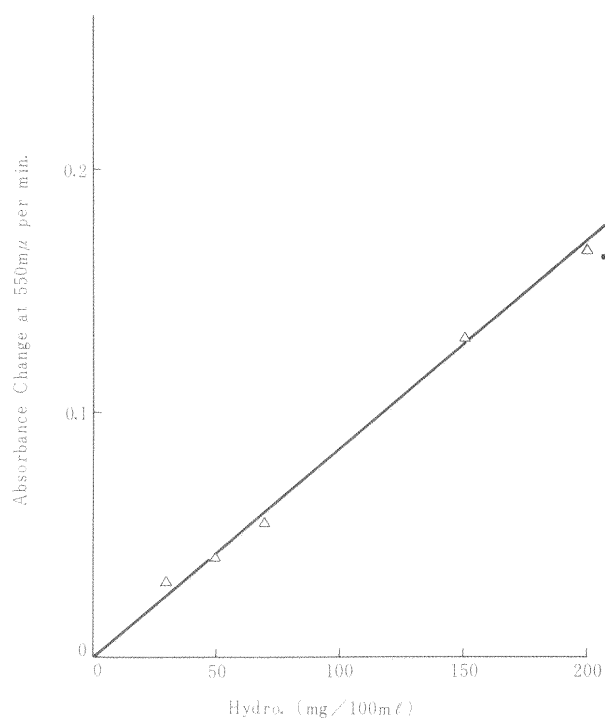


図18 チトクロムcに対する還元剤量と還元速度の関係

この場合、 λ_1 を等吸収点に、 λ_2 を目的の成分波長に選定すれば、その差吸光度から各成分量を定量的に求めることができる。特に、にごりの影響は、近接波長ではほとんど等しく相殺されるし、またにごり度の変化—沈澱または粒子の浮遊状態などによる—によっても、影響が小さい特長を生かすことができる。

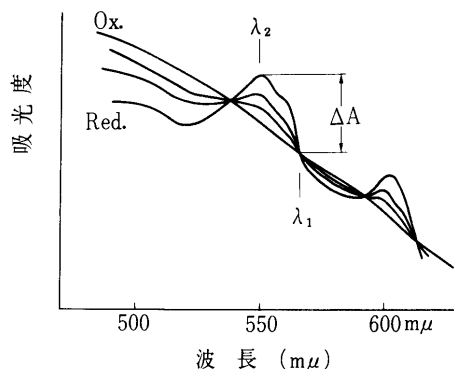


図19 ミトコンドリアの吸収スペクトル

(5) 自記分光光度計としての測定例

二波長測光法により測定する場合にも、 λ_1, λ_2 の選定には正しい吸収スペクトルのは握が必要である。また、試料は自記分光光度計として吸収スペクトルを測定することがきわめて多いと考えられる。そこで、過マンガン酸カリウム水溶液で可視域の検量線の直線性を検討した。 λ_1 と λ_2 を合致させてレバーをSPLITに切り替えれば、ただちに自記分光光度計として使用できる。

KMnO₄水溶液6.7mg/100ml, 13.4mg/100ml, 20.1mg/100ml—それぞれ, Abs, 1, 2, 3, に相当—を作成して、差スペクトルにより測定した。その結果を整理すると、図20に示すように、Abs. 3付近までは直線であり、それ以上も計測できることがわかった。すなわち、自記分光光度計として精度よく、吸収スペクトルが測定できることが明らかである。

(6) その他の測定

二波長測光法では、このほかにも種々の測定が考えられる。たとえば、セル側面に照射光を当てて光化学反応を起させながら吸収スペクトルを計測することもできる。植物中のファイトクロームの研究や、光合成など応用範囲は広い。また、 λ_1 は固定して λ_2 だけを波長走査したり、さらに二つの波長、二つの光路に試料を置き、同時に反

WORKING CURVE FOR KMnO₄

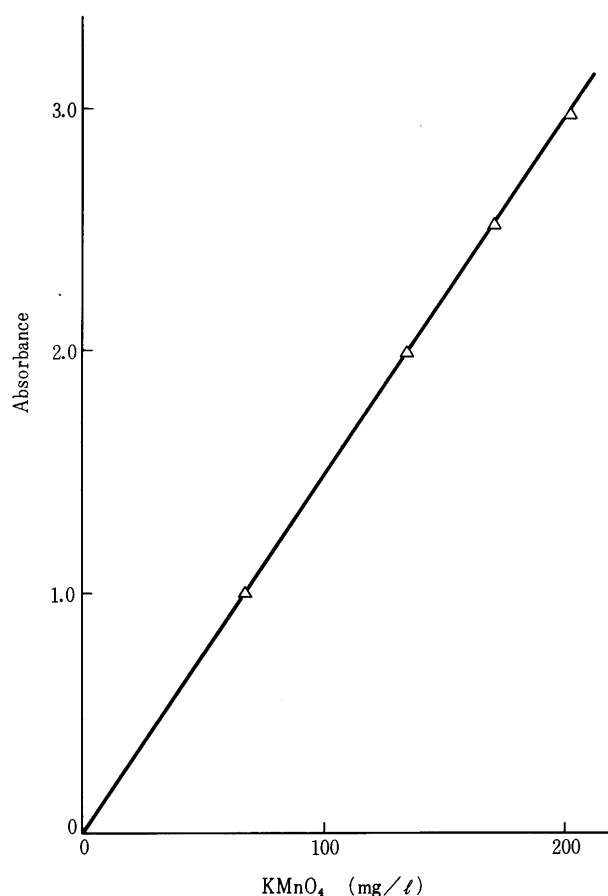


図20 KMnO₄水溶液の検量数(差スペクトル法による)

応をスタートさせ、それぞれの吸収スペクトルの時間変化を2ペン、あるいは2台の記録計で追跡することもできる。

むすび

356形日立二波長／自記分光光度計は、透明試料はもちろんのこと混濁試料が精度よく測定できる。自記分光光度計ではできなかった分野に測定手段が拡張開発され、広い応用面への適用と、活用が期待される。

二波長測光について

小森 律夫* 保田 和雄*

1. 二波長測光の特長(自記測光と比較して)

二波長測光は自記測光と比較して、つぎのような特長をもっている。

(1) セル1個で測光ができる

自記分光光度計を使った測光では、対照液と試料液との比較で吸光度を測定しているが、混濁試料では対照液をうることはきわめて困難である。たとえ、試料と同一な混濁対照液が得られたとしても、一般に、濁りは時々刻々変化するものであり、対照セルと試料セルの濁り度が完全に一致するとは考えられない。

これは特に、高濃度混濁液に含まれるわずかな指標物質の測定では問題となるところであり、また、透明試料でも微小吸光度を測定する場合には、セル誤差を考えないわけにはいかない。

しかし、二波長測光では、1個の試料セルに2つの単色光を交互に同一場所、同一光束で照射することにより、これらの諸欠陥を除くことができる。

このように測光精度が著しく向上し、また対照液が不要であることが、二波長測光の最大の特長である。

(2) 微小吸光度の測定ができる

二波長測光では、試料セルは1個であるから、セル誤差、セル位置誤差、濁り変化などセルに関する因子は排除することができる。2つの波長の信号からその差信号を検出し記録させるので、光源電圧、外部電源の変動などに対して安定であり、非常に高感度、低ノイズで記録できる。わずかな吸光度変化でも拡大検出できるので(吸光度0.01フルスケール)、従来の自記分光光度計に比して約10倍拡張される。

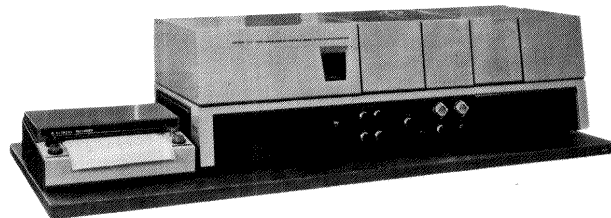
このことは、最近の生化学分野における微量試料測定の要望や高価な薬品の経済的使用ができることなどから画期的といってよい。

二波長測光は、吸光度0.01フルスケールを使用し、1個のセルでよいので、従来の1%の試料量で測定が可能である。

(3) 微分スペクトルが測定できる

急しゅんな吸収スペクトルにショルダ成分があり、これを検知したいときに、その微分スペクトルから成分の波長位置や量を、測定することができる。

二波長測光法では、二つの波長 λ_1 と λ_2 をわずかずらして($\Delta\lambda$)セットし、波長走査を行なえば、ただちに微分スペクトルが得られる。スケール0.1、0.03、0.01を使用すれば、わずかなショルダも拡大して記録できるし、また、微分値は成分の濃度に比例するから定量も可能である。



356形 日立二波長/自記分光光度計

(4) 一つの波長を固定、他の波長を走引

λ_1 を固定して λ_2 を走査できるので、対照液の作製困難な混濁試料では、定量その他に効果を発揮する。

2 二波長測光の歴史および現状

生化学分野で活躍しているアメリカのペンシルバニア大学ジョンソン 研究所長 B. Chance 教授は、1951年二波長測光を考案し自作の二波長分光光度計を使用して生物試料を研究した結果を発表した。

それ以来10数年、教授とそのグループの人々によって、この独特な方法が駆使され、数多くの研究が進められて現在にいたっている。

装置は図1(次ページ)に示すように、分光器を2つ用いて、それぞれ任意の波長を選択、そして走査できるようになっている。

AおよびB分光器から出た単色光 λ_A 、 λ_B は、振動ミラーによって短時間に切り替えられ、交互にセルに照射される。

セルには混濁液または透明液が置かれるが、前者を考慮して広面積ヘッドオン形の光電子増倍管が使用されており、信号は差動回路で増幅され、差吸光度(または差透過率)として記録される。

続いてButlerらはフィルタ方式による二波長光度計を試作した。わが国の大西勤氏は1963年にChanceの装置とは異なる機構で多波長方式の測定装置を開発試作して筋肉しかん因子によるCa²⁺イオン結合を研究している。

以上のほか、一、二の実験室において試作されてはいるが、その操作のはん雑さから、特定の人しか運転できない有様で、ほとんど実用にはなっていない様子である。

ところで、二波長分光光度計で製品化されたのは、つい2、3年前で現在アメリカのアミンコ社とフェニックス社の2社があるだけであった。アミンコ社でも、はじめは、装置の有用性がわからず、Chanceの研究室から人が出

*日立製作所那珂工場

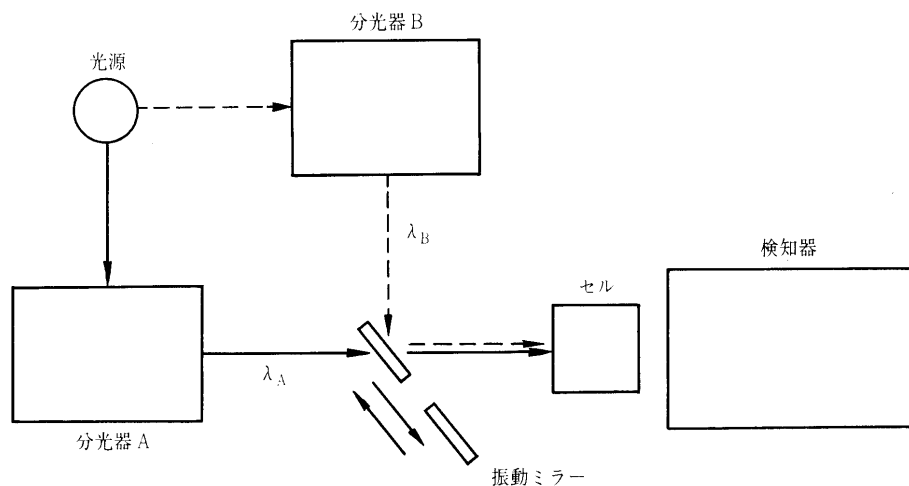


図1 B. Chance 教授の二波長光度計

てやっと製作されてきたほどであった。

このほど日立製作所で製作した 356形日立二波長／自記分光光度計は大西勤氏が開発した機構を基礎として製品化に成功したもので、二波長測光の歴史から見てきわめてユニークな製品であると考えてる。

3 356形 日立二波長／自記分光光度計について

(1) Abs. 0.01 フルスケールでの測定

二波長測光法はセルが1個であるため、セルに関する因子が解決される。また、差信号を記録するので、安定がよく、わずかな吸光度の変化も低ノイズ(O.D0.0002程度)で検知できるから、精密分析に適用できる。

(2) 混濁試料の測定

豊富なスケール(Abs. 0.01, 0.03, 0.1, 0.3, 1.0)を使用して混濁試料が測定できる。二波長測光法は本質的に濁りの影響を受けにくいのが特長であるから、活用が期待される。

本器はレバー1つの切換えで簡単に自記分光光度計としてただちに使用できるから(λ_1 と λ_2 を合致させて)吸収スペクトルも測定できる。

(3) 微分スペクトルの測定

λ_1 と λ_2 の波長差を小さくセットして波長走査を行なえば、ただちに微分スペクトルが取れる。

(4) 1つの波長を固定、他の波長を走査

2つの波長は、それぞれ、固定または走査できるので、

任意の波長に対する他の波長位置での強度比較ができるから、対照液のない混濁試料での定量に有用である。

(5) 試料室

試料室は長さ 170, 幅 230, 深さ 190mmで、十分な大きさをもっており、取りはずしも簡単にできる。検知器も取りはずし、位置の移動ができ、必要なれば試料室外にもセットできる。

(6) 光反応の測定

セル側面から照射光をあてながら測定ができる。これは電気系に特殊回路を採用し、側面からの照射光の影響を受けにくいようにしてある。

(7) 同時反応の追跡

2台の分光器、2台の記録計(または、二素子記録計 QPD73形)を使用して同時反応を追跡する必要のある場合、本器を使用すれば、二つの波長を任意に選び一つの試料セルに照射してそれぞれの信号を弁別選択して、記録することができる。