

報 文

レーザーを用いた高感度吸光光度計の開発

東京職業訓練短期大学校 渡辺 勇・後藤和則・飯島徹穂

Development of The Highly Sensitive
Absorptiometer Using A Laser Light Source

Isami Watanabe, Kazunori Gotoh, Tetsuo Iijima

要 約 Lambert—Beerの法則に基づき、試料中の光路長を延長することは吸光光度計の感度を高めるのに有効である。吸光光度計の高感度化を図るため、新しい光学系を考案した。この方式は2個の直角プリズムを使ってレーザー光を多重回反射させ、光路長を大幅に延長させたものである。この新しい光学系を持つ高感度吸光光度分析計を試作して硫酸ニッケル(II)溶液の吸光度を測定したところ、濃度と吸光度の間には良好な直線関係が認められた。また、レーザー光の透過回数に比例して吸光度が増大した。本装置と市販の吸光光度計を用いて作成した検量線から見かけのモル吸光係数を求めたところ、それぞれ $16\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ 、および $1.45\text{dm}^3 \text{mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$ と得られ、市販の吸光光度計に比べて感度が大幅に向上することが認められた。

I 緒 言

最近、新素材およびバイオテクノロジーなどの分野において、超微量元素、超微量成分の計測技術が不可欠となっており、理学、工学、農学、医学および薬学等の分野において研究、または実用的な分析手段として広く活用されている。このように、多くの分野で用いられている吸光光度分析も周辺の分析機器の進歩に伴って高感度化の要求が高まっている。

従来の吸光光度分析装置をより高感度化させるには、高感度発色試薬を開発してモル吸光係数をより大きくするか、Lambert—Beerの法則に基づいて光路長を延長するか、のいずれかが考えられる。後者の光路長を延長する方法として、藤原らは¹⁻⁴⁾長光路毛細吸光管を用いる超高感度吸光光度法を提案している。しかし、この方法では、試料溶液に毛細管材質より屈折率の高い溶媒を用いなければならないことや、操作が複雑などの問題点がある。そこで、著者らは⁵⁻⁸⁾通常の吸光光度分析法に用いられている1cm標準セルを用い、2個の直角プリズムで多重回反射させることにより試料溶液中を通過する光路をできるだけ延長できる方法を考案した。

本報ではこの新しい吸光光度計の原理と構造を述べ、

さらに硫酸ニッケル(II)溶液についての実験結果を報告する。

II 高感度吸光光度分析装置の原理と構造

光を物質に照射すると吸収されてその強さは弱まる。いま、 I_0 の光を物質にあて、入射光の一部が吸収されて、 I の透過光となって通過したとすると、物質の吸光度とその光路の長さ b と濃度 a との関係はLambert—Beerの法則によって次のように表される。

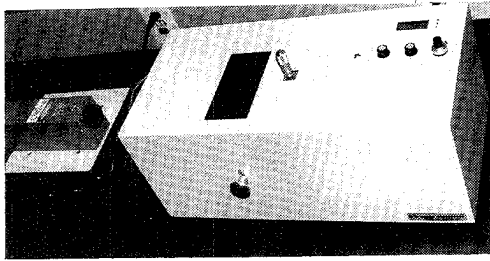
$$A \text{ (吸光度)} = \log I_0 / I = a b c$$

ただし、 a は吸光係数、 b は吸収光路長、 c は溶液の濃度である。

本装置の原理は、この関係式から吸収光路長 b を長くすることができれば、極めて小さな吸光係数を有する物質でも大きな吸光度の変化として観測できることを利用したものである。

開発した吸光光度分析装置の全体図と内部の構成図を図1に示す。直角プリズム P_1 と、これと同じ形状、材質のプリズムの頂点の部分 P_2 を約4mm幅でカットし、その面を鏡面仕上げをしたプリズム P_2 を対向して配置した。ただし、直角プリズム P_2 はマイクロメーターにより自由に上下方向に移動することができるようになっている。

使用した直角プリズム P_1 の寸法を図 2 に示す。セルホ



(A)

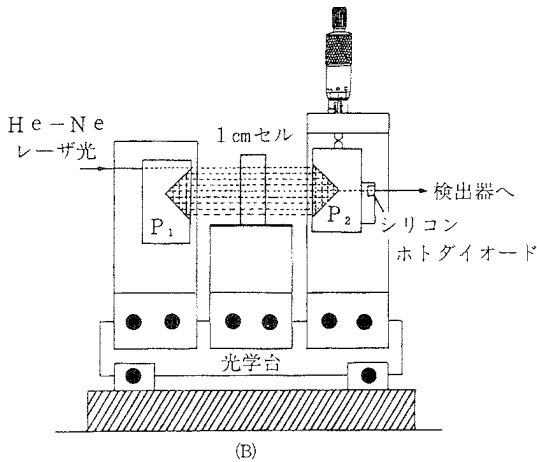


図 1 TPC方式吸光度計の全体図(A)と内部の構成図(B)

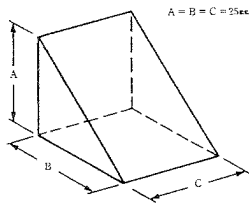


図 2 直角プリズム

ルダーに固定された厚さ 1 cm の標準セルは直角プリズム P_1 と P_2 間に置かれている。直角プリズム P_1 と P_2 、およびセルホルダーはそれぞれ独立に光学台上を移動でき、厚さ 1 cm のセル以外に 5 cm、10 cm セル等も使用できるようにしてある。He-Ne レーザ (NEC GLG

5000、波長 633 nm) 光源は装置本体の外部に、図 1 (A) のように独立して配置した。He-Ne レーザ光は直角プリズム P_1 の上方から入射させ、直角プリズム P_1 と P_2 間で多重回の反射後、 P_2 の頂点のカットされた部分より取り出す。出力光強度はシリコンホトダイオードで検出し、増幅して液晶表示デジタルボルトメーターで読み取ることができる。

次に本装置の主要部分であるプリズム光学系についてのべる。

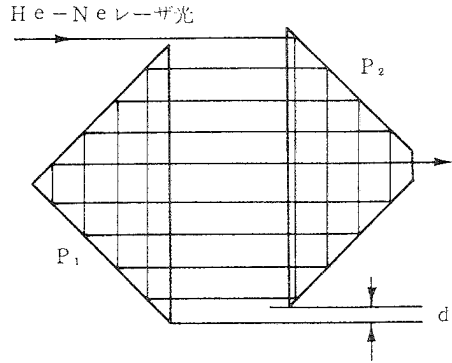


図 3 TPC方式の光学系

直角プリズムの光学系の拡大図を図 3 に示した。直角プリズム P_1 の上方よりレーザービームを入射し、 P_2 で全反射させ、 P_1 および P_2 間の多重回の反射後、 P_2 の頂点のカットされた部分よりレーザー光を取り出す。この方式では、直角プリズム P_2 をマイクロメーターにより上下方向に移動することにより、直角プリズム P_1 および P_2 の上下方向のズレ d を小さくすればレーザー光の吸収セル中の透過回数を増すことができ、逆に d を大きくすれば透過回数を連続的に減らすことができる。このように、この光学系では通常の吸光度計の光学系に比べて光路長を大幅に延長できるだけでなく、光路長を自由に制御することもできる利点がある。この方式を著者らは Twin Prism Coupling (TPC) 法と名付けた。

III 実験結果および検討

試作した装置で種々の濃度の硫酸ニッケル (II) 溶液の吸光度を測定し、検量線を作成した。その結果を図 4 に示す。試料として硫酸ニッケル (II) を選んだのは、これが He-Ne レーザ光源の赤色光の波長 633 nm に近い 655 nm に吸収極大を示すためである。

図 4 に示したように硫酸ニッケル (II) 濃度と吸光度の間には良好な直線関係が認められ、また、透過回数に比例して吸光度が増大している。

試料の硫酸ニッケル(II)標準溶液は、特級硫酸ニッケル

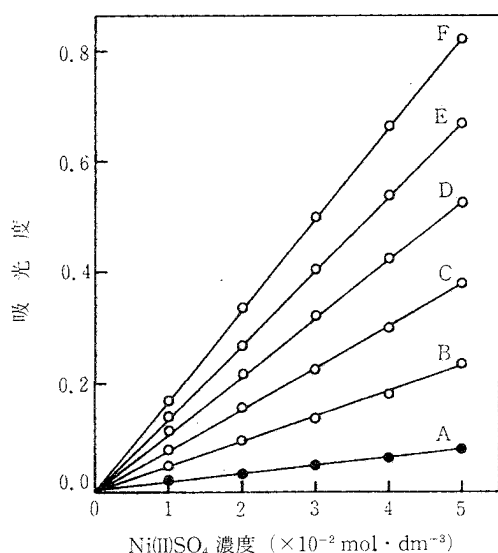


図4 透過回数に対する硫酸ニッケル濃度と吸光度の関係

A: 市販吸光光度計(島津UV-200S)

B~F: TPC方式吸光光度計

透過回数: B=3, C=5, D=7

E=9, F=11

ル(II)六水和物131.43gを希硫酸(1+1)10mlに溶かし、水を加えて0.50mol/lの溶液を調製し、これを原液として水で適宜希釈して使用した。

図4の透過回数11回における検量線(F)から見かけのモル吸光係数を求めたところ $16\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ という値が得られた。比較のために市販の吸光光度計(島津ダブルビームUV-200S)で吸光度を測定して作成した検量線(A)から求めた見かけのモル吸光係数は $1.45\text{dm}^3\text{mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ であった。この結果は、TPC方式吸光光度計の検出限界が通常の吸光光度計に比較して約1/11に下げられることを示している。この方式では透過回数を増すこともでき、検出限界をさらに下げることが可能である。

なお、この実験でレーザービームの試料への透過回数が3, 5, 7, 9, 11回の奇数回で測定したのは付録で述べる計算機シミュレーションの結果に基づくものである。

IV 結言

吸光光度分析法の高感度化を達成するために、試料中の吸収光路長を延長する方法として、TPC方式の光学系を考案した。この新しい光学系を持つ高感度吸光光度計を試作し、この装置で硫酸ニッケル(II)溶液の吸光度を測定して検量線を作成したところ良好な直線関係が得

られた。さらに、TPC方式の吸光光度計では通常の吸光光度計に比べて感度が大幅に向上することが確認された。今後、さらにこの装置を改善し、溶液中の極微量成分や大気中の二酸化炭素、メタンおよびフロン等の高感度分析へ応用したいと考えている。

終りに、本研究に協力された卒研究生近藤幹郎、曾根博之、成塚恵美子、佐藤有紀の諸君に感謝いたします。また、本研究費用の一部は昭和63年度指定研究費によるもので、併せて謝意を表します。

(1988年6月、第49回分析化学討論会講演)

参考文献

- (1) 藤原: 分析化学 34 737 (1985).
- (2) K. Fuwa, Wei Lei and K. Fujiwara: Anal. Chem., 56 1640 (1984).
- (3) Wei Lei, K. Fujiwara and K. Fuwa: Anal. Chem., 55 951 (1983).
- (4) K. Fujiwara and K. Fuwa: Anal. Chem., 57 1012 (1985).
- (5) 飯島徹徳、渡辺勇、柴田則夫、近藤幹郎: 第四十九回分析化学討論会、1 B27 (1988).
- (6) 飯島徹徳、渡辺勇、荒井俊彦、高橋三視: 第四十九回応用物理学会学術講演会、6 P Z B 8 / III (1988)
- (7) 飯島徹徳、渡辺勇、後藤和則、荒井俊彦: 第五十回分析化学討論会、1 B 0 8 (1989)
- (8) Tetsuo IJIMA, Isami WATANABE, Toshihiko ARAI, Toshimoto NAKAGAWA: The 1989 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (1989)

付 録 T P C 方式吸光光度計におけるプリズム光学系の計算機シミュレーション

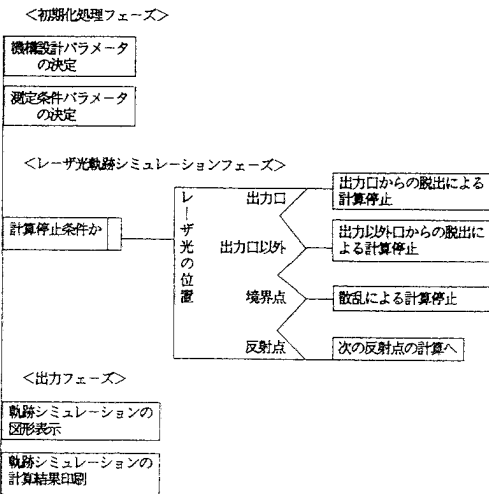
付表 1 物理事象のモデル化表現

事 象	モデル内での表現
境界面での反射	現象的にはレーザー光の散乱が起きるので、計算処理を打ち切る。
レーザー光の重なり	現象的にもレーザー光が重複したまま反射が進行していくので、計算処理を続ける。
レーザー光の分離	現象的にもレーザー光が分断されたまま反射が進行していくので、計算処理を続ける。
レーザー光の拡がり	現象的にはレーザービームは若干の拡がりを持つが、一定として扱う。

(a) モデルの考え方と構成について

汎用計算機（富士通M730-20）上で動くFORTRANと2次元Graphic Library（G S P）によりモデルの作成を行い、シミュレーションを実行した。このモデル化にあたっては、まずT P C方式の光学系（図3参照）部分の物理現象のみをシミュレートできるような抽象化モデルを考えることにした。この考えによるモデル構成は付図1のようにになっている。また、アルゴリズムの面ではとくに下記の2点を考慮した。

- (1) 光学系の特異的な物理現象については、付表1に示すようなモデル化表現をしている。
- (2) 直角プリズムのモデル内表現としては、2次元平面上の切片と勾配を用いた一次関数群で表している。

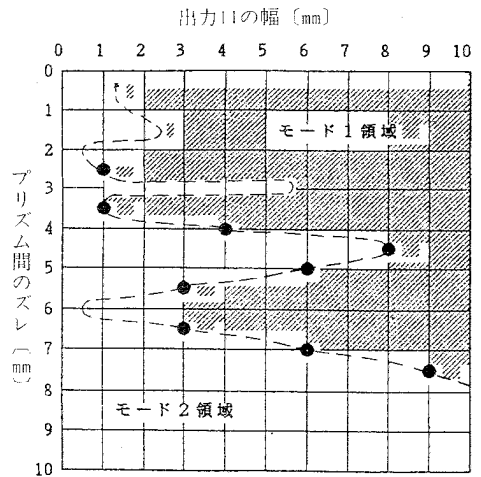


付図1 計算機シミュレーションのモデル構成

(b) シミュレーションの結果

(1) パラメータ設定値の評価

レーザービーム入射位置を図3のP₁上端より0.1mm、ビーム径を0.5mm、P₁とP₂間の距離を50cmにとったときのP₁とP₂プリズム間のズレとレーザービーム出力口の幅との関係を付図2に示した。この結果、レーザービームが出力口から出力される部分はモード1の領域であることが明らかになった。したがって、本装置のレーザービーム出力口の幅は4mmであるので、ビームが出力口より正常に出力される領域はプリズム間のズレdがそれぞれ0.5~3.0、3.2~4.0、5.3~6.7mmのときである。

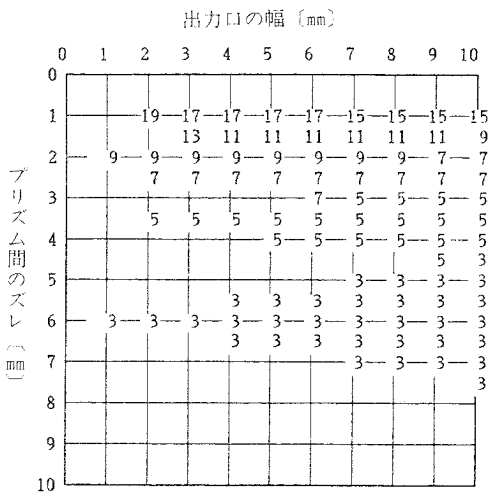


付図2 レーザ光の軌跡状態のモード図

- 注) モード1 (斜線) : 出力口から出力される。
 モード2 (点線) : 出力口以外から出力される。
 モード3 (丸印) : 出力口からと出力口以外とに分離される。

(2) モード1領域における透過回数の分布

P_1 と P_2 プリズム間のズレ d を縦軸にレーザビーム出力口の幅(mm)を横軸にとると付図3に示したような透過回数の分布が得られた。ただし、図中の数字はレーザビームの透過回数を表している。試作装置ではプリズムの出力口の幅は4mmであるので、透過回数は3、5、7、9、11、15および17の奇数回のみ可能であることが分かる。この計算機シミュレーションの結果をチェックするため、実際の装置を用いて奇数回の透過回数とプリズム間のズレ d の関係を測定したところ、付表2に示されるように両者の値は互いによく一致している。



付図3 モード1領域における「透過回数」の分布図
注) モード1：出力口からレーザ光が正常に出力される。

付表2 計算機シミュレーションと試作装置における対向プリズム間のズレと透過回数

透過回数 (n)	プリズム間のズレ	
	シミュレーション結果 (mm)	TPC方式結果 (mm)
3	5.7	5.74
5	3.5	3.48
7	2.4	2.42
9	1.9	1.88
11	1.5	1.54