

Application News

No.A518

光吸収分析
Spectrophotometric Analysis

アミノ酸の微量測定 — UV-1850 における Nano Stick の活用 —

Microdetermination of Amino Acids
- Application of UV-1850 Using Nano Stick -

多くの分野で物質の定量や定性を目的として紫外可視分光光度計が利用されています。その中で、医薬／化学／ライフサイエンス分野では測定に十分な試料量が採取できない場合などがあり、より微量での測定が求められています。従来のセルの形状では、光路長を維持して容量を減らすにはセルの幅や高さ方向を変化させることで、数十 μL での測定を可能にしてきました。今回は試料の量が数 μL でも測定できるセル (Nano Stick) を使い、紫外可視分光光度計 UV-1850 でアミノ酸類の微量測定を行いましたのでご紹介します。

K. Sobue

■ UV-1850 と SCINCO 社製 Nano Stick

UV-1850 and SCINCO Nano Stick

Fig. 1 に UV-1850 の外観を、Fig. 2 に Nano Stick の外観を示します。UV-1850 では操作しやすいパネルを採用したことでより使いやすくなりました。また、省スペース設計 (450 (W) × 490 (D) × 270 (H) mm) のため場所を選びません。Fig. 3 に Nano Stick の使い方の手順を示します。まず Nano Stick に試料を入れる場合、①のようにセル部を二つに分け、試料を滴下します (最小試料容量 2 μL)。次に②のように試料をもう一方のセル部で挟んで保持します (光路長 0.5 mm)。その後③のようにセルホルダにセットし、測定を行います。測定後は④のように試料を拭き取るだけで、次の測定が行えます。Table 1 に Nano Stick の仕様を示します。



Fig. 1 紫外可視分光光度計 UV-1850
UV-1850 UV-Visible Spectrophotometer



Fig. 2 Nano Stick の外観
Nano Stick



Fig. 3 Nano Stick の使い方
How to use Nano Stick

Table 1 Nano Stick の仕様
Specifications of Nano Stick

使用可能波長範囲	: 190 ~ 1100 nm
光路長	: 0.5 mm
大きさ	: 12.5 (W) × 12.5 (D) × 60 (H) mm
光軸高さ	: 15 mm
最小試料量	: 2 μL

■アミノ酸類の微量測定

Microdetermination of Amino Acids Using Nano Stick

たんぱく質中のアミノ酸としてチロシン, トリプトファン, フェニルアラニンが 280 nm 付近に吸収を示すことは既に知られており, たんぱく質の定量には 280 nm 付近の吸光度を利用することが一般的です。Fig. 4 に Nano Stick を用いて測定した各溶液 (溶媒: 水酸化ナトリウム水溶液) のスペクトルを示します。測定条件は Table 2 に示します。各試料の吸収ピーク波長は異なりますが, 280 nm 付近に吸収を持つことがわかります。

異なった濃度のトリプトファン溶液を 6 点準備して, 検量線を作成しました。Table 2 の条件で測定した各濃度の吸収スペクトルを Fig. 5 に, 波長 280 nm で 3 回繰り返して測定した吸光度の平均値を使って作成した検量線を Fig. 6 に示します。微量でも精度良く測定できていることがわかります。

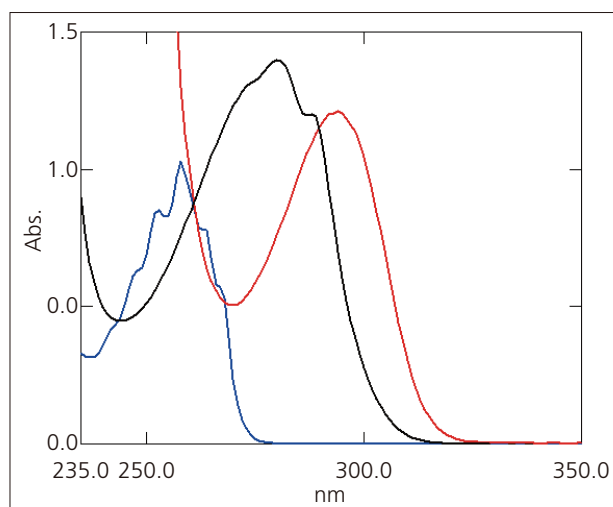


Fig.4 吸収スペクトル 黒線: トリプトファン (5×10^{-3} mol/L), 赤線: チロシン (0.01 mol/L), 青線: フェニルアラニン (0.05 mol/L)
Absorption Spectra Black: Tryptophan (5×10^{-3} mol/L), Red: Tyrosine (0.01 mol/L), Blue: Phenylalanine (0.05 mol/L)

Table 2 測定条件
Measurement Conditions

測定波長範囲	: 235 ~ 350 nm
スキャンスピード	: 中速
サンプリングピッチ	: 1.0 nm
測光値	: 吸光度

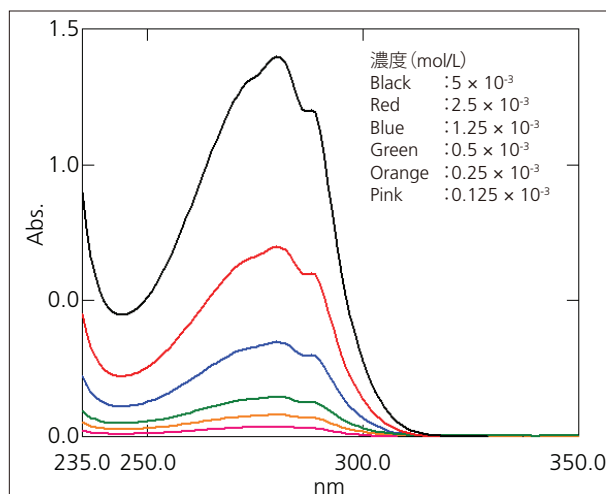


Fig.5 濃度の異なるトリプトファンの吸収スペクトル
Absorption Spectra of Different Concentrations of Tryptophan

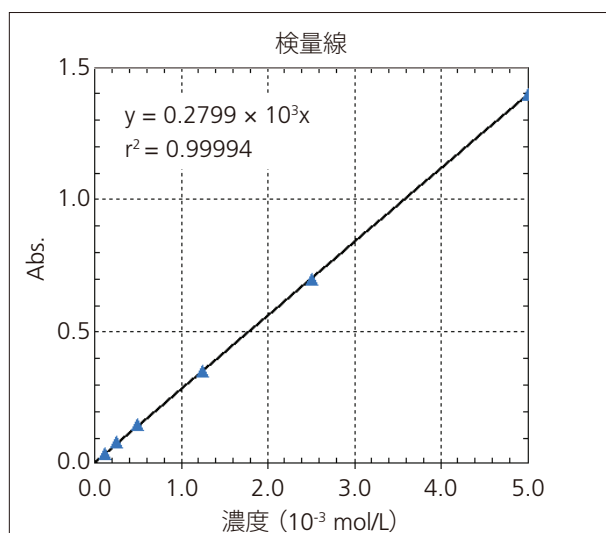


Fig.6 トリプトファン水酸化ナトリウム溶液の検量線
Calibration Curve of Tryptophan Sodium Hydroxide Aqueous Solutions

■まとめ

Conclusion

紫外可視分光光度計 UV-1850 と Nano Stick を用いることで, 数 μL といった微量な試料でも精度良く簡単に測定できることが確認できました。なお, 本分析は Hellma 社製の TrayCell を用いても測定できます。TrayCell を用いた食品添加物の微量測定に関してはアプリケーションニュース No. A519 を参照ください。