

Application News

No. A574

光吸収分析

食用色素やアミノ酸類の微量測定 – TrayCell や Nano Stick の活用 –

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、食品/環境分野では測定後の廃液量を削減したいとの要望などがあり、より微量での測定が求められています。また、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、こちらも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2種類のセル(TrayCell™ (Hellma Analytix社製)とNano Stick (SINCO社製))を用いて、紫外可視分光光度計 UV-1900 で食用色素と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

■ TrayCell と Nano Stick

UV-1900の外観を図1に示します。UV-1900では省スペース設計(450(W)×501(D)×244(H)mm)かつ人間工学に基づいたハードデザインを採用しています。操作パネルはカラータッチパネルで、「一目で状態が分かる」「一目で使い方が分かる」を実現したユーザー・インターフェイス(UI)を採用しています。図2にTrayCellとNano Stickの外観を示します。図3左はTrayCellに試料をセットする様子です。TrayCellは光学系を含むセル部とキャップから成り立っており、セル部の窓ガラスとキャップの間に試料をセットします。測定手順は、キャップを外し窓ガラスに試料を滴下します。キャップをして、分光光度計のセルホルダに入れることで測定ができます。測定後は試料を拭き取るだけで、次の測定が行えます。図3右にTrayCellの構造と光路を示します。TrayCellでは光源からの入射光をセル部下部のミラーで窓ガラスへと導きます。入射光は窓ガラスとキャップの間にある試料を透過しキャップ裏面に取り付けられたミラーで反射されます。その後入射光は再度試料を透過して、セル部下部のミラーでセルから出て、装置の検出器に至ります。光路長は、窓ガラスとキャップ間の距離の2倍となります。TrayCellは2種類のキャップがあり、光路長を変えることができます。

図4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0.5mm)。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。表1にTrayCellとNano Stickの仕様を示します。

表1 TrayCellとNano Stickの仕様

使用可能波長範囲	: 190~1100 nm
光路長	: 0.2 mm、1.0 mm (TrayCell) 0.5 mm (Nano Stick)
最小試料量	: 0.7~4 μL (TrayCell、光路長0.2 mm) 3~5 μL (TrayCell、光路長1.0 mm) 2 μL (Nano Stick)



図1 UV-1900の外観



図2 左: TrayCell、右: Nano Stickの外観

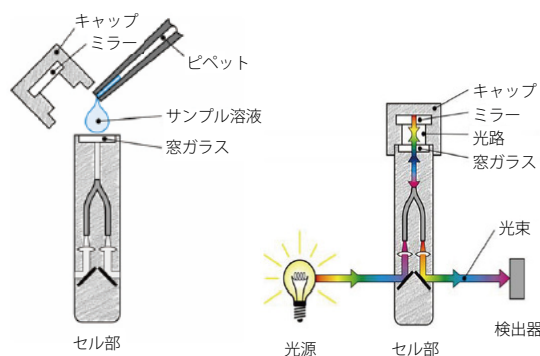


図3 TrayCell 左: 試料をセットする様子、右: 構造と光路



図4 Nano Stickの使い方

■ 食用色素の微量測定

食べ物をおいしく見せるために、ときに食品添加物として食用色素が使われています。今回は市販の食用色素をTrayCellを用いて測定しました。光路長は1.0 mmのキャップを使用しました。図5に各水溶液のスペクトルを示します。食用色素の色毎に吸収の現れる波長が異なります。異なった濃度の食用色素 緑水溶液を5点 (25、50、100、250、500 mg/L) 準備して、検量線を作成しました。波長 629 nm で作成した検量線を図6に示します。検量線は $Abs = 0.1304 \times 10^{-2} \text{ Conc.}$ と表せて、相関係数の2乗は 0.9999 となりました。微量でも精度良く測定できていることがわかります。

表2 測定条件

波長範囲	: 350~900 nm
スキャンスピード	: 中速
サンプリングピッチ	: 1.0 nm

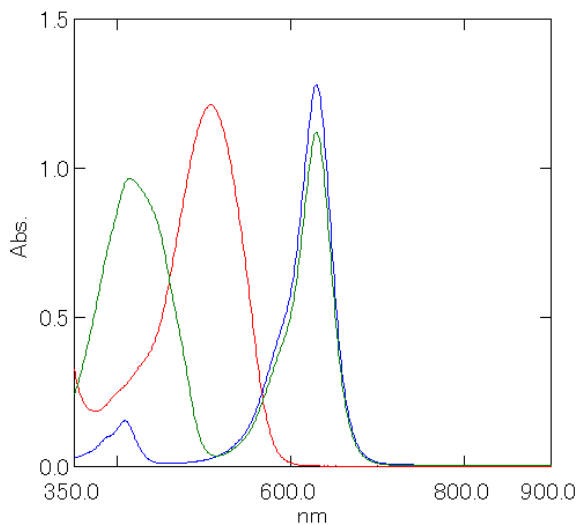


図5 吸収スペクトル 青：食用色素 青 (1000 mg/L)、
緑：食用色素 緑 (2000 mg/L)、赤：食用色素 赤 (2000 mg/L)

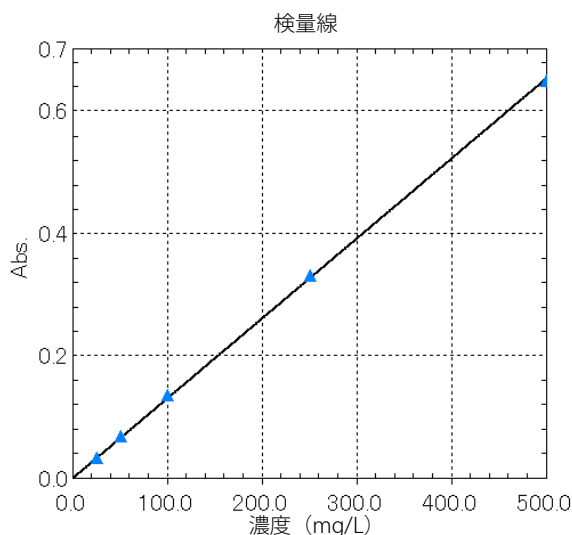


図6 食用色素 緑の検量線

■ アミノ酸類の微量測定

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。図7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。なお、図7の画面はUV-1900にあるスクリーンショット機能を利用しています。測定条件は表3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。また、異なった濃度のトリプトファン溶液を6点 (0.125、0.25、0.5、1.25、2.5、5 Mmol/L) 準備して、検量線を作成しました。波長280 nmで作成した検量線を図8に示します。検量線は $Abs = 0.2597 \text{ Conc.}$ と表せて、相関係数の2乗は 0.9996 となりました。微量でも精度良く測定できていることがわかります。

表3 測定条件

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

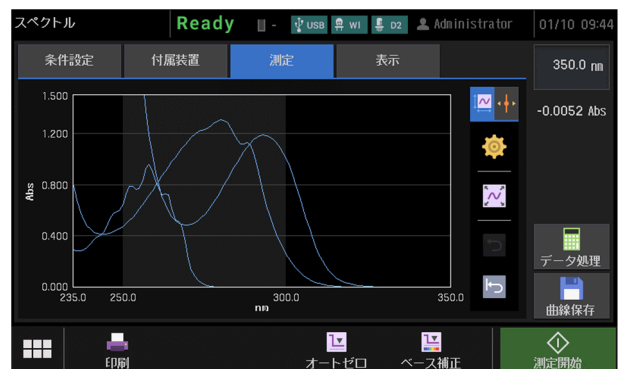


図7 吸収スペクトル 左から順にチロシン (0.01 mol/L)、
トリプトファン (0.005 mol/L)、フェニルアラニン (0.1 mol/L)

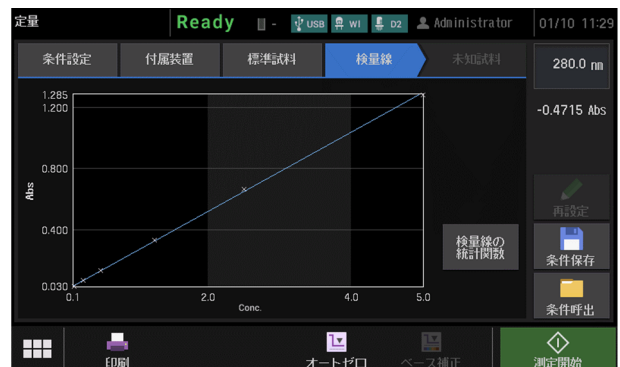


図8 トリプトファン溶液の検量線

■ まとめ

紫外可視分光光度計 UV-1900 と TrayCell や 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。

TrayCell は、Helma GmbH の商標です。

本文書に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。
なお、本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。