

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特許公報(B2)

(11) 特許番号

特許第4106064号
(P4106064)

(45) 発行日 平成20年6月25日(2008.6.25)

(24) 登録日 平成20年4月4日(2008.4.4)

(51) Int.Cl. F1
 GO1N 21/19 (2006.01) GO1N 21/19
 GO1J 3/447 (2006.01) GO1J 3/447

請求項の数 1 (全 14 頁)

(21) 出願番号	特願2005-289531 (P2005-289531)	(73) 特許権者	000232689 日本分光株式会社 東京都八王子市石川町2967番地の5
(22) 出願日	平成17年10月3日(2005.10.3)	(73) 特許権者	503360115 独立行政法人科学技術振興機構 埼玉県川口市本町4丁目1番8号
(65) 公開番号	特開2007-101280 (P2007-101280A)	(74) 代理人	100092901 弁理士 岩橋 祐司
(43) 公開日	平成19年4月19日(2007.4.19)	(72) 発明者	井上 佳久 大阪府豊中市東泉丘4-3-5-1308
審査請求日	平成17年10月3日(2005.10.3)	(72) 発明者	ビクター ボロフコフ 大阪府豊中市上新田4-8朝日プラザB-501

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 光学系付属品、それを用いた分光光度計

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

光出射手段から放射された光を二つの光束に分割し、該二つの光束を試料室に導入し、該試料室から出射した二つの光束をそれぞれ光検出手段で検出するダブルビーム型分光光度計と、該ダブルビーム型分光光度計の試料室に着脱自在な、円二色性を測定するための光学系付属品と、を備え、円二色性の測定を行う分光光度計であって、

前記光学系付属品は、前記試料室内の一方の光束の光路上に設置される試料を保持する第1の試料保持手段と、他方の光束の光路上に設置される試料を保持する第2の試料保持手段と、各試料保持手段の光照射側に設置され、左円偏光および右円偏光を生成する左円偏光生成手段および右円偏光生成手段とを備え、

前記左円偏光生成手段および右円偏光生成手段は各々偏光子と4分の1波長板とを含み、

前記左円偏光生成手段と右円偏光生成手段とは、その配置位置が入れ替え可能に構成され、前記第1の試料保持手段側に左円偏光、第2の試料保持手段側に右円偏光を照射する第1の照射状態と、前記第1の試料保持手段側に右円偏光、第2の試料保持手段側に左円偏光を照射する第2の照射状態と、を切替可能なものであり、

また、該分光光度計は、前記光検出手段にて検出した第1の試料保持手段側からの試料の透過光の強度と、第2の試料保持手段側からの試料の透過光の強度との差もしくは商を求める検出強度差演算手段と、

前記第1および第2の試料保持手段に円二色性の測定対象となる同一の試料を設置した

ときの前記第1の照射状態での前記検出強度差演算手段にて求めた検出強度差および前記第2の照射状態での前記検出強度差演算手段にて求めた検出強度差、前記第1および第2の試料保持手段に同一のブランク試料を設置したときの前記第1の照射状態での前記検出強度差演算手段にて求めた検出強度差および前記第2の照射状態での前記検出強度差演算手段にて求めた検出強度差を記憶する記憶手段と、

該記憶手段に記憶された、円二色性の測定対象となる試料を設置したときの第1の照射状態および第2の照射状態での検出強度差と、ブランク試料を設置したときの第1の照射状態および第2の状態での検出強度差とから前記測定対象となる試料の円二色性を算出する円二色性算出手段と、

を備えたことを特徴とする分光光度計。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、ダブルビーム型の分光光度計用の光学系付属品、およびそれを用いた分光光度計、特に該装置による円二色性測定の測定方式の改良に関する。

【背景技術】

【0002】

化合物の光学活性の測定を利用してその絶対配置を決定することは重要なことである。例えば、光学活性アミン類、アルコール類は食品・薬物などに広く利用される有用な化合物であるが、これらの絶対構造を決定することは化学・生物学・薬物の分野において非常に重要である。しかし、これらの化合物は、顕著な発色団を持たず、円二色性(CD)を持たない、もしくは非常に小さいものであることが少なくない。

一方、亜鉛ポルフィリン二量体はそれ自体では円二色性を持たないが、上記アミンやアルコールと混合すると配位化合物を形成し、アミンやアルコールのキラリティーと関連した配位化合物のキラリティーが生じる。しかもこの配位化合物のキラリティーは元のアミンやアルコール類のキラリティーよりも大きなものとなり、かつ分裂幅があまり大きくない励起子タイプの円二色性を示す性質がある。特許文献1、2にはこの性質を利用して、従来円二色性測定では難しいとされていたアミン類、アルコール類のキラリティーを高感度に測定する方法が記載されている。

【特許文献1】特開2001-220392号公報

【特許文献2】特開2004-264049号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

円二色性の測定強度は通常の吸光度と比較して1000分の1程度であることが一般的であり、円二色性の測定のためには専用の特別な装置が必要であった。しかし、専用装置は相当に高価であること、円二色性しか測定できないこと、を考えあわせると円二色性の測定を日常的に行なわないユーザーにとって、わざわざこの装置を設備しなければならないことは経済的負担が過重であった。

本発明は上記課題に鑑みなされたものであり、その目的はより汎用的で安価な分光光度計に比較的簡単な付属品を取り付けることにより、円二色性を十分な精度で測定することのできる光学系付属品、およびそれを用いた分光光度計を提供することにある。

【課題を解決するための手段】

【0004】

本発明にかかる光学系付属品は、光出射手段から放射された光を二つの光束に分割し、該二つの光束を試料室に導入し、該試料室から出射した二つの光束をそれぞれ光検出手段で検出するダブルビーム型分光光度計の試料室に着脱自在な、円二色性を測定するための光学系付属品である。

そして、上記目的を達成するため、本発明にかかる分光光度計は、光出射手段から放射された光を二つの光束に分割し、該二つの光束を試料室に導入し、該試料室から出射した

10

20

30

40

50

二つの光束をそれぞれ光検出手段で検出するダブルビーム型分光光度計と、前記光学系付属品と、を備え、円二色性の測定を行う分光光度計であって、

前記光学系付属品は、前記試料室内の一方の光束の光路上に設置される試料を保持する第1の試料保持手段と、他方の光束の光路上に設置される試料を保持する第2の試料保持手段と、各試料保持手段の光照射側に設置され、左円偏光および右円偏光を生成する左円偏光生成手段および右円偏光生成手段とを備える。

前記左円偏光生成手段および右円偏光生成手段は各々偏光子と4分の1波長板とを含む。

前記左円偏光生成手段と右円偏光生成手段とは、その配置位置が入れ替え可能に構成され、前記第1の試料保持手段側に左円偏光、第2の試料保持手段側に右円偏光を照射する第1の照射状態と、前記第1の試料保持手段側に右円偏光、第2の試料保持手段側に左円偏光を照射する第2の照射状態と、を切替可能なものである。

また、該分光光度計は、検出強度差演算手段と、記憶手段と、円二色性算出手段と、を備える。

ここで、前記検出強度差演算手段は、前記光検出手段にて検出した第1の試料保持手段側からの試料の透過光の強度と、第2の試料保持手段側からの試料の透過光の強度との差もしくは商を求める。

また、前記記憶手段は、前記第1および第2の試料保持手段に円二色性の測定対象となる同一の試料を設置したときの前記第1の照射状態での前記検出強度差演算手段にて求めた検出強度差および前記第2の照射状態での前記検出強度差演算手段にて求めた検出強度差、前記第1および第2の試料保持手段に同一のブランク試料を設置したときの前記第1の照射状態での前記検出強度差演算手段にて求めた検出強度差および前記第2の照射状態での前記検出強度差演算手段にて求めた検出強度差を記憶する。

前記円二色性算出手段は、該記憶手段に記憶された、円二色性の測定対象となる試料を設置したときの第1の照射状態および第2の照射状態での検出強度差と、ブランク試料を設置したときの第1の照射状態および第2の状態での検出強度差とから前記測定対象となる試料の円二色性を算出する。

【発明の効果】

【0005】

本発明にかかる光学系付属品、およびそれを用いた分光光度計によれば、汎用のダブルビーム型分光光度計を用いても十分な精度で円二色性を測定することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0006】

以下に図面を参照して本発明の好適な実施形態について説明する。

本発明にかかる光学系付属品は、図1に一例として示したダブルビーム型の分光光度計に適用されるものである。なお、本発明にかかる光学系付属品はここに示す構成の分光光度計に限らず、その他の構成のダブルビーム型の分光光度計に適用することができる。

図1に示した分光光度計10は、光出射手段12と、該光出射手段12から放射された光を2光束に分割する光分割手段14と、該2つの光束が導入され、試料の設置場所となる試料室16と、試料室16内から出射した2つの光束をそれぞれ検出する光検出手段18と、光検出手段18により検出した信号を処理するデータ処理系20と、を備える。

【0007】

光出射手段12は光源22と、波長走査のための分光器24とを備える。光出射手段12から出射された光は、光分割手段14としてのビームスプリッタ26へ入射する。ビームスプリッタ26へ入射した光はその一部が透過し、試料室16の入射窓30aへ向い、また一部は反射してミラー28を介し試料室16の入射窓30bへ向う。入射窓30aから試料室16に入射した光束は、試料室16内を通り、出射窓32aから試料室16外へ出射する。同様に入射窓30bから試料室16に入射した光束は、試料室16内を通り、出射窓32bから試料室16外へ出射する。ここで、試料室16内の上記2つの光束の光路上には、それぞれ試料(もしくは参照試料)34a, 34bが設けられる。出射窓32

10

20

30

40

50

a, 32b から出射した光はそれぞれ検出器 36a, 36b (光検出手段 18) によって検出される。検出器 36a, 36b で検出された信号はコンピュータ等で構成されたデータ処理系 20 に送られ、各種データ処理が施される。

【0008】

本発明にかかる光学系付属品は、上で示したような分光光度計 10 の試料室 16 への取り付け、取り外しが可能で、通常の分光光度計の試料室に取り付けることで簡便に円二色性 (CD) を測定することを可能とするものである。このため、本発明の光学系付属品は以下に説明するような原理を利用した構成をとっている。

【0009】

4分の1波長板は、所定の波長の光に対し90度(1/4周期)の位相差を与える働きを有する。直線偏光の単色光に対し、4分の1波長板をその光軸が単色光の偏光方向と45度になるように設置する。その4分の1波長板に直線偏光の単色光を通すと、該単色光は円偏光となる。ここで、4分の1波長板がちょうど90度の位相差を与える、つまり厳密な意味での円偏光を生成するのは、その4分の1波長板の適応波長のみにおいてである。つまり、その適応波長からはずれた光は一般には楕円偏光となる。しかし、適応波長を含むある波長範囲(例えば、±50nm)の光であれば、十分円偏光に近い楕円偏光となり、実質的には円偏光とみなすことができる。そこで、このことを利用することで、使用する4分の1波長板の適用波長を含む所定波長領域において、測定対象物のCDスペクトルを測定することができる。

【0010】

具体的には、分光光度計の試料室内の光路上に偏光子、4分の1波長板、試料セルを設置し、偏光子の偏光方向と4分の1波長板の光軸が45度になるように設置する。ここで、4分の1波長板は、測定対象物が円二色性を示す中心波長に近いものを用いる。この状態で、測定対象物が円二色性を示す波長領域で測定すると、この測定対象物の左もしくは右円偏光に対する吸収スペクトルが測定される。左円偏光か右円偏光かは、偏光子と4分の1波長板の軸の位置関係で決まる。次に、4分の1波長板を90度回転し、偏光子と光軸が-45度になるようにする。そして同様に測定を行うと、今後は先ほどと逆の円偏光に対する吸収スペクトルが得られる。このようにして得られた左右円偏光に対する吸収スペクトルの差を求めると、これが測定対象物のCDスペクトルとなる。

【0011】

このため、本発明にかかる光学系付属品を備えた分光光度計は、広い波長領域でCDスペクトルを測定する必要のない(つまり、比較的狭い波長領域での測定で十分な)測定対象物に対して、十分精度のよい測定を行うことができる。好適な測定対象物としては、例えば従来技術に述べたようなキラルなアミン類、アルコール類化合物と亜鉛ポリフィリン二量体との配位化合物が挙げられる。つまり、この配位化合物は、可視域(430nm付近)で、比較的波長幅が狭く、強い励起子カップリング型分裂するCDバンドを与える。よって、4分の1波長板として、その適用波長が430nm付近のものを使用することで十分に信頼性の高い測定を行うことができる。

【0012】

以上が本発明にて採用する測定の原理であるが、CDは吸光度と比較して1/1000程度の強度であることが一般的であり、上記のように差として算出する場合、目的とするCDスペクトルは様々な原因による誤差にうもれて、正しく得られないことが少なくない。この誤差をより小さく抑えることが重要なポイントとなるため、その工夫を施した実施形態を以下に記載する。

【0013】

<第一実施形態>

図2は本発明の第一実施形態にかかる光学系付属品の概略構成図である。図2(a)がその正面図、図2(b)がその斜視図である。

図2の光学系付属品110は、第1の光束(入射窓30aから入射した光束)の光路上に設置される第1の偏光子112aと、第2の光束(入射窓30bから入射した光束)の

10

20

30

40

50

光路上に設置される第2の偏光子112bと、第1の偏光子および第2の偏光子からの直線偏光を互いに逆向きの円偏光（左円偏光、右円偏光）にする4分の1波長板114と、4分の1波長板114からの左右円偏光が照射される試料（セル116）を保持する試料保持手段（セルホルダ118）とを備える。ここで、第1の偏光子112aと第2の偏光子112bは、互いに直交した偏光方向を持つように配置され、4分の1波長板114を透過した第1、第2の光束が互いに逆向きの円偏光となるようにしている。

【0014】

入射窓30aから入射した第1の光束は、ミラー120a、ミラー122aを介して第1の偏光子112aへと向う。第1の偏光子112aを透過した第1の光束は直線偏光とされ、4分の1波長板114へと向う。ここで、4分の1波長板114の軸（進相軸）の方向（0度とする）に対し、第1の偏光子112の偏光方向は+45度（光束の進行方向からみて、時計周りを正、反時計周りを負とした）にとっている。同様に入射窓30bから入射した第2の光束は、ミラー120b、ミラー122bを介して第2の偏光子112bへと向う。第2の偏光子112bを透過した第2の光束は直線偏光とされ、4分の1波長板114へと向う。4分の1波長板114の軸の方向に対し、第2の偏光子112bの偏光方向は-45度（光束の進行方向からみて、時計周りを正、反時計周りを負とした）にとっている。このように第1の偏光子112aと第2の偏光子112bの偏光方向が互いに直交するようにとっているため、4分の1波長板114を透過した第1の光束、第2の光束は互いに逆向きの円偏光となる。

【0015】

4分の1波長板114を透過した第1および第2の光束は、セルホルダ118に保持されたセル116の略同一部位に照射される。そして、セル116を透過した第1の光束はミラー124a、ミラー126aを介して試料室16の出射窓32bから試料室16外に出射する。同様に試料セル114を透過した第2の光束はミラー124b、ミラー126bを介して試料室の出射窓32bから試料室16外に出射する。

出射窓32bから出射した第1の光束は検出器36bによって検出され、その検出信号がデータ処理系20へと送られる。同様に出射窓32aから出射した第2の光束は検出器36aによって検出され、その検出信号がデータ処理系20へと送られる。データ処理系20では、これらの検出信号から、セル116に入れられた試料の左右円偏光に対する各吸収スペクトルを求め、各吸収スペクトルから円二色性スペクトルを算出する。円二色性の測定に際しては、試料セルに光学不活性な溶媒を入れたブランク測定を行い、このブランク測定で得たスペクトルデータをバックグラウンドデータとして用いる。

【0016】

このように第一実施形態では、右円偏光と左円偏光をほぼ同時に試料に照射して測定を行っているため、測定中に試料を動かす必要がなく、試料を動かすことに起因する誤差が生じる心配がない。また、右円偏光と左円偏光の照射部位がほぼ同一であり、試料セル中の試料の濃度ムラによる測定誤差を低く抑えることができる。また、光学系が対称に設置されており、測定に左円偏光および右円偏光のみを用いているため検出器（例えば、フィトマルチプライヤ等）の偏光特性の影響を受けにくい。

【0017】

<第二実施形態>

図3は第二実施形態にかかる光学系付属品を組み込んだ分光光度計の概略構成図である。図3に示した光学系付属品210は、試料室16内の第1、第2の光束の光路上に設置される試料（セル212a、212b）を保持する第1および第2の試料保持手段（セルホルダ）214a、214bと、第1および第2の試料保持手段214a、214bの光照射側に設置される左円偏光生成手段216a、右円偏光生成手段216bとを備えている。ここで、左円偏光生成手段216aは、偏光子218aと4分の1波長板220aとの組み合わせで構成され、偏光子218aの偏光方向と4分の1波長板220aの軸とを45°の角度に設定しておく。同じく右円偏光生成手段216bは、偏光子218bと4分の1波長板220bとの組み合わせで構成される。ただし、偏光子218bの軸と

4分の1波長板220bの軸との角度を -45° に設定しておく。つまり、左円偏光生成手段216a、右円偏光生成手段216bの偏光子の偏光方向は互いに直交しており、左円偏光生成手段216a、右円偏光生成手段216bを透過した光はそれぞれ逆向きの円偏光となる。よって、セル212aに照射される円偏光の向きと、セル212bに照射される円偏光の向きは互いに逆向きとなる。

【0018】

さらに、左円偏光生成手段216aと右円偏光生成手段216bとの配置位置は交換可能に構成されており、左円偏光生成手段216aと右円偏光生成手段216bとを入れ替えることにより、各セル212a、212bに照射される円偏光の向きは入れ替える前と逆向きになる。以下、セル212a（第1の光束の光路上に設置される）に左円偏光、セル212bに右円偏光を照射する状態を第1の照射状態と呼び、セル212aに右円偏光、セル212bに左円偏光を照射する状態を第2の照射状態と呼ぶ。図3では第1の照射状態を示している。なお、本実施形態の光学系付属品210を用いた分光光度計では、第1および第2の試料保持手段に保持される各セル212a、212bには同一の試料（もしくはブランク測定の場合、同一の溶媒等）を封入して測定を行うことを前提としている。

10

【0019】

第1の照射状態において、試料室16の入射窓30aから入射した第1の光束は、左円偏光生成手段216aを透過して左円偏光とされ、試料保持手段214aに保持されたセル212aに照射される。セル212aを透過した第1の光束は出射窓32aから試料室16外へ出射し、光検出手段18の検出器36aにて検出される。同様に試料室16の入射窓30bから入射した第2の光束は、右円偏光生成手段216bを透過して右円偏光とされ、試料保持手段214bに保持されたセル212bに照射される。セル212bを透過した第2の光束は出射窓32bから試料室16外へ出射し、光検出手段18の検出器36bにて検出される。

20

【0020】

また、第2の照射状態において、試料室16の入射窓30aから入射した第1の光束は、右円偏光生成手段216bを透過して右円偏光とされ、試料保持手段214aに保持されたセル212aに照射される（図4（b）、（d）参照）。セル212aを透過した第1の光束は出射窓32aから試料室16外へ出射し、光検出手段18の検出器36aにて検出される。同様に試料室16の入射窓30bから入射した第2の光束は左円偏光生成手段216bを透過して左円偏光とされ、試料保持手段214bに保持されたセル212bに照射される。セル212bを透過した第2の光束は出射窓32bから試料室16外へ出射し、光検出手段18の検出器36bにて検出される。

30

【0021】

検出器36a、36bでの検出信号はデータ処理系20に送られ、記憶手段220に記憶され、各種データ処理が行われる。データ処理系20の検出強度差演算手段222では検出器36aから得られる透過光の強度と、検出器36bから得られる透過光の強度との差（もしくは商）を求める。求めた検出強度差は記憶手段220に記憶される。

【0022】

円二色性算出手段224では、記憶手段220に記憶された、円二色性の測定対象となる試料をセル212a、212bに入れたとき（サンプル測定）の第1の照射状態および第2の照射状態での検出強度差と、ブランク試料をセル212a、212bに入れた場合（ブランク測定）の第1の照射状態および第2の状態での検出強度差とから、測定対象となる試料の円二色性を算出する。具体的にはサンプル測定での第1の照射状態における検出強度差と、第2の照射状態における検出強度差との差分をとり、その差分の2分の1を求めることで、サンプル測定値を求める。同様にブランク測定での第1の照射状態における検出強度差と、第2の照射状態における検出強度差との差分をとり、その差分の2分の1を求めることで、バックグラウンド測定値を求める。サンプル測定値からバックグラウンド測定値を引くことで、測定対象となる試料の円二色性スペクトルを算出する。このよ

40

50

うな測定方法をとることにより、下記に示すように設置する光学系に起因する光吸収による偽信号を除去した円二色性スペクトルを得ることができる。

次に上記の光学系付属品を備えた分光光度計による円二色測定の測定手順について説明する。

【 0 0 2 3 】

< ブランク測定 >

図 4 (a) , (b) に示すように、セル 2 1 2 a、セル 2 1 2 b にブランク試料として同一の溶媒 (測定対象となる試料を溶かす溶媒) を入れ、試料保持手段 2 1 4 a , 2 1 4 b にそれぞれ設置する。

図 4 (a) ではセル 2 1 2 a の前段に左円偏光生成手段 2 1 6 a、セル 2 1 2 b の前段に右円偏光生成手段 2 1 6 b を設置し (第 1 の照射状態)、セル 2 1 2 a、セル 2 1 2 b をそれぞれ透過した光の強度を検出器 3 6 a、3 6 b で検出する。検出強度差演算手段 2 2 2 では検出器 3 6 a で検出した透過光強度の対数 (吸光度) から、検出器 3 6 b で検出した透過光強度の対数 (吸光度) を減算し、検出強度差 B_1 を求め、記憶手段 2 2 0 に記憶する。

【 0 0 2 4 】

次に図 4 (b) に示すように、左円偏光生成手段 2 1 6 a と右円偏光生成手段 2 1 6 b とを入れ替えて、つまり、セル 2 1 2 a の前段に右円偏光生成手段 2 1 6 b、セル 2 1 2 b の前段に左円偏光生成手段 2 1 6 a を設置し (第 2 の照射状態)、このときのセル 2 1 2 a、2 1 2 b をそれぞれ透過した光の強度を検出器 3 6 a、3 6 b で検出する。検出強度差演算手段 2 2 2 では検出器 3 6 a で検出した光強度の対数 (吸光度) から、検出器 3 6 b で検出した光強度の対数 (吸光度) を減算し、検出強度差 B_2 を求め、記憶手段 2 2 0 に記憶する。

円二色性算出手段 2 2 4 では、上記の検出強度差 B_1 、 B_2 との差の 2 分の 1 を計算し、バックグラウンド測定値 B を求め、記憶手段 2 2 0 に記憶する。

【 0 0 2 5 】

ここで、左円偏光生成手段 2 1 6 a、右円偏光生成手段 2 1 6 b を光が透過したときに生ずる光吸収 (吸光度) をそれぞれ D_L 、 D_R とし、左右円偏光がセル 2 1 2 a、2 1 2 b 内の溶媒 (ブランク試料) を透過したときに生ずる光吸収 (吸光度) をそれぞれ Z^0_L 、 Z^0_R とし、セル 2 1 2 a、2 1 2 b 自体が持つ光吸収 (吸光度) をそれぞれ C_1 、 C_2 とする。検出器 3 6 a、3 6 b の検出感度は偏光に依存しないとすると、上記の検出強度差 B_1 、 B_2 はそれぞれ、

$$B_1 = (D_L + C_1 + Z^0_L) - (D_R + C_2 + Z^0_R) ,$$

$$B_2 = (D_R + C_1 + Z^0_R) - (D_L + C_2 + Z^0_L) ,$$

と表される。

B_1 と B_2 との差の 2 分の 1 であるバックグラウンド測定値 $B (= (B_1 - B_2) / 2)$ を求めると、

$$B = (D_L - D_R) + (Z^0_L - Z^0_R) ,$$

となる。ここで、溶媒 (ブランク試料) は円二色性を有しないもの ($Z^0_L = Z^0_R$) を用いるため、

$$B = (D_L - D_R) ,$$

となる。この式から分かるように、セル 2 1 2 a、2 1 2 b 自体による光吸収 (吸光度) の違いはバックグラウンド測定値 B の式からキャンセルされており、測定値 B は左右円偏光生成手段を構成する光学系の光吸収の差を表している。

【 0 0 2 6 】

< サンプル測定 >

次に図 4 (c) , (d) に示すように、セル 2 1 2 a、セル 2 1 2 b に円二色性の測定対象となる試料 (ブランク測定で用いた溶媒に同一サンプルを溶かしたもの) を入れ、試料保持手段 2 1 4 a、2 1 4 b にそれぞれ設置する。

図 4 (b) ではセル 2 1 2 a の前段に左円偏光生成手段 2 1 6 a、セル 2 1 2 b の前段

10

20

30

40

50

に右円偏光生成手段 2 1 6 b を設置し (第 1 の照射状態) 、セル 2 1 2 a , セル 2 1 2 b をそれぞれ透過した光の強度を検出器 3 6 a , 3 6 b で検出する。検出強度差演算手段 2 2 2 では検出器 3 6 a で検出した透過光強度の対数 (吸光度) から、検出器 3 6 b で検出した透過光強度の対数 (吸光度) を減算し、検出強度差 S_1 を求め、記憶手段 2 2 0 に記憶する。

【 0 0 2 7 】

次に図 4 (d) に示すように、左円偏光生成手段 2 1 6 a と右円偏光生成手段 2 1 6 b とを入れ替えて、つまり、セル 2 1 2 a の前段に右円偏光生成手段 2 1 6 b 、セル 2 1 2 b の前段に左円偏光生成手段 2 1 6 a を設置し (第 2 の照射状態) 、このときのセル 2 1 2 a 、 2 1 2 b をそれぞれ透過した光の強度を検出器 3 6 a , 3 6 b で検出する。検出強度差演算手段 2 2 2 では検出器 3 6 a で検出した光強度の対数 (吸光度) から、検出器 3 6 b で検出した光強度の対数 (吸光度) を減算し、検出強度差 S_2 を求め、記憶手段 2 2 0 に記憶する。

円二色性算出手段 2 2 4 では、上記の検出強度差 S_1 、 S_2 との差の 2 分の 1 を計算し、サンプル測定値 $S (= (S_1 - S_2) / 2)$ を求め、記憶手段 2 2 0 に記憶する。

【 0 0 2 8 】

ここで、左円偏光生成手段 2 1 6 a , 右円偏光生成手段 2 1 6 b を光が透過したときに生ずる光吸収 (吸光度) をそれぞれ D_L , D_R とし、左右円偏光がセル 2 1 2 a , 2 1 2 b 内のサンプルを透過したときに生ずる光吸収 (吸光度) をそれぞれ Z_L , Z_R とし、セル 2 1 2 a 、 2 1 2 b 自体による光吸収 (吸光度) をそれぞれ C_1 、 C_2 とする。ここで検出器 3 6 a , 3 6 b の検出感度は偏光に依存しないとすると、検出強度差 S_1 、 S_2 はそれぞれ、

$$S_1 = (D_L + C_1 + Z_L) - (D_R + C_2 + Z_R) ,$$

$$S_2 = (D_R + C_1 + Z_R) - (D_L + C_2 + Z_L)$$

と表される。そして、 S_1 と S_2 との差の 2 分の 1 であるサンプル測定値 $S (= (S_1 - S_2) / 2)$ を求めると、

$$S = (D_L - D_R) + (Z_L - Z_R)$$

となる。この式から分かるように、セル 2 1 2 a 、 2 1 2 b 自体が持つ光吸収 (吸光度) の違いはサンプル測定値 S の式からキャンセルされている。

上記サンプル測定値 S からバックグラウンド測定値 B を引くと、

$$S - B = (Z_L - Z_R)$$

となり、サンプルの円二色性が求められる。この式から明らかなように、セルの持つ光吸収の違い、左右円偏光生成手段の持つ光吸収の違いに由来する偽信号を除去した、円二色性の値を得ることができていることが分かる。このため、通常小さな強度しか示さない円二色性を十分信頼できる精度で測定することが可能となる。

以上のように、第二実施形態にかかる光学系付属品を組み込んだ分光光度計によれば、汎用のダブルビーム型分光光度計を用いても十分な精度で円二色性を測定することができる。

【 0 0 2 9 】

< 第三実施形態 >

図 5 は第三実施形態にかかる光学系付属品を組み込んだ分光光度計の概略構成図である。本実施形態では、一方の光束 (図 5 の第 1 光束) を測定側光束、他方の光束 (図 5 の第 2 光束) を参照側光束として用いる。図 5 の光学系付属品 3 1 0 は、測定光側光束の光路上に配置され、生成する円偏光の向きが切替可能な切替型円偏光生成手段 3 1 2 a と、該切替型円偏光生成手段 3 1 2 a からの円偏光が照射される試料 (セル 3 1 4 a) を保持する試料保持手段 (セルホルダ 3 1 6 a) と、を備える。

【 0 0 3 0 】

切替型円偏光生成手段 3 1 2 a は、偏光子 3 1 8 a と 4 分の 1 波長板 3 2 0 a とを備え、偏光子 3 1 8 a の偏光方向と 4 分の 1 波長板 3 2 0 a の軸の方向との角度を相対的に変更できるように構成されている。例えば、図 6 に示すように 4 分の 1 波長板 3 2 0 a は、

10

20

30

40

50

取っ手を有するホルダ 3 2 2 に保持されており、該ホルダ 3 2 2 は 4 分の 1 波長板 3 2 0 a の進相軸方位を、偏光子の偏光軸に対して、+ 4 5 度（図 6 (a) ）、0 度（図 6 (b) ）、- 4 5 度（図 6 (c) ）に切替ができるように、光軸を中心として回転可能に構成されている。また、ホルダ 3 2 2 は上記の角度位置で固定されるよう構成されている。4 分の 1 波長板の軸方位を 0 度、+ 4 5 度、- 4 5 度とすることで、切替型円偏光生成手段 3 1 2 a を透過する光はそれぞれ、直線偏光、左円偏光、右円偏光となる。ここでは、偏光子の偏光方向を固定して 4 分の 1 波長板の軸方位を変更する構成を示したが、4 分の 1 波長板の軸方位を固定して偏光子の軸方位を変更する構成でもかまわない。ただし、光源、分光器などに由来する光の偏光特性を考慮すると、偏光子の軸方位を固定する構成の方が好ましい。

10

【 0 0 3 1 】

また、図 5 に示すように本実施形態では第 2 の光束を参照側光束として用いており、試料室 1 6 内の第 2 光束の光路上にはダミーの光学系 3 2 4 が設置される。ダミーの光学系を設置しないで測定を行ってもよいが、バランスを取るために第 1 の光束の光路上に設置される光学系と対応する光学系（切替型円偏光生成手段 3 1 2 b（偏光子 3 1 8 b、4 分の 1 波長板 3 2 0 b）、試料保持手段 3 1 6 b、セル 3 1 4 b）を設置することが好適である。ただし、セル 3 1 4 b にセル 3 1 4 a に入れる試料と同一な試料を入れたとき、セル 3 1 4 b に照射する光は直線偏光となるように、ダミー光学系 3 2 4 の切替型円偏光生成手段 3 1 2 b の 4 分の 1 波長板 3 2 0 b の軸方位を 0 度に設定しておく。

【 0 0 3 2 】

試料室 1 6 の入射窓 3 0 a から入射した第 1 の光束は、切替型円偏光生成手段 3 1 2 a により左円偏光（もしくは右円偏光）とされ、セル 3 1 4 a に照射される。セル 3 1 4 a を透過した第 1 の光束は出射窓 3 2 a から試料室 1 6 外へ出射し、光検出手段 1 8 の検出器 3 6 a にて検出される。同様に試料室の入射窓 3 0 b から入射した第 2 の光束は、ダミー光学系 3 2 4 を通り、出射窓 3 2 b から試料室の外へ出射し、検出器 3 6 b にて検出される。

20

検出器 3 6 a , 3 6 b にて検出された検出信号はデータ処理系 2 0 に送られ、記憶手段 3 2 6 に記憶され、各種データ処理が行われる。データ処理系 2 0 の検出強度差演算手段 3 2 8 では検出器 3 6 a から得られる透過光の強度と、検出器 3 6 b から得られる透過光の強度との差（もしくは商）を求める。求めた検出強度差は記憶手段 3 2 6 に記憶される。上記の測定を、切替型円偏光生成手段 3 1 2 a の 4 分の 1 波長板 3 2 0 a の方位を切り替えることで、セル 3 1 4 a に照射する円偏光の向きを変えて実行する。

30

【 0 0 3 3 】

円二色性算出手段 3 3 0 では、記憶手段 3 2 6 に記憶された、セル 3 1 4 a に左円偏光を照射したときの検出強度差、セル 3 1 4 a に右円偏光を照射したときの検出強度差とから試料の円二色性を算出する。つまり、左円偏光を照射したときの検出強度差から右円偏光を照射したときの検出強度差を減算して円二色性スペクトルを求める。また、セル 3 1 4 a（及びダミー光学系のセル 3 1 4 b）にブランク試料（測定対象の試料を溶解する溶媒等）を入れたブランク測定を行った場合には、左円偏光を照射したときの検出強度差から右円偏光を照射したときの検出強度差を減算して求めたものをバックグラウンドスペクトル（ベースライン）として用い、セルに試料を入れて測定して求めたスペクトルからバックグラウンドスペクトルを減算して円二色性スペクトルを求める。

40

以上のように、本実施形態の光学系付属品を用いた分光光度計によれば、一方の光束を参照光として用いることで、試料の円二色性を十分な精度で測定することが可能となる。

【 0 0 3 4 】

次に本発明にかかる装置を用いたキラル化合物絶対配置決定方法について説明する。この決定方法は、亜鉛ポルフィリン 2 量体とキラル化合物とを含む試料溶液について円二色性を測定し、コットン効果の符号から前記キラル化合物の不斉炭素の絶対配置を決定する方法であって、ダブルビーム型分光光度計に上記の第一から第三実施形態の光学系付属品を装着した装置によって、亜鉛ポルフィリン 2 量体とキラル化合物とを含む試料溶

50

液の円二色性を測定することを特徴とする。

【0035】

試料溶液の円二色スペクトル(CDスペクトル)は、通常二つのピーク、即ち一つの極大値と一つの極小値を示す。より長波長側のピークを「第1コットン効果」といい、より短波長側のピークを「第2コットン効果」という。斉誘起の機構は、亜鉛ポルフィリン2量体のポルフィリン環同士のねじれにより説明される。つまり、配位子であるキラル化合物の または 炭素に結合している最も大きな置換基と、キラル化合物が配位していないポルフィリン環(フリーのポルフィリン環)に結合したメチル基以上にバルキーな置換基との間に立体障害が生じることにより、ポルフィリンの配向にねじれが生じ、ポルフィリン間の励起子相互作用(エキシトンインターアクション)に基づく円二色性があらわれるものと理解できる。CDエキシトン・キラリティー法によると、二つの相互に作用する電子遷移モーメントが手前から奥側に向かって時計回りに並ぶと正のキラリティーを創出し、反時計回りに並ぶと負のキラリティーを創出する。例えば、絶対配置がSであるキラル化合物がポルフィリン2量体に配位すると、手前から奥側に向かって時計回りにねじれるので、第1コットン効果の符号は「正」となる。一方、絶対配置がRであるキラル化合物がポルフィリン2量体に配位すると、手前から奥側に向かって反時計回りにねじれるので、第1コットン効果の符号は「負」となる。本発明の方法では、ポルフィリン2量体に測定対象であるキラル化合物を配位させたときに得られるCDスペクトルのコットン効果の符号によって、前記キラル化合物の絶対配置を決定することができる。

10

【0036】

上記の方法では、円二色性の測定を、ダブルビーム型分光光度計に上記の第一から第三実施形態の光学系付属品を装着した装置によって行っているため、円二色性測定の専用装置を使用する場合よりも、簡便かつ経済的にキラル化合物の絶対配置を決定することができる。

20

また、上記の方法の測定対象となるキラル化合物としては、ジアミン、モノアミン、モノアルコール、およびアミノアルコールからなる群から選択される一種の化合物であることが好適である。

【実施例1】

【0037】

以下に上記の第三実施形態の装置を用いて測定を行った例について説明する。

30

試料として、ビス亜鉛ポルフィリン二量体にR-(+)-1-ナフチルエチルアミンを配位させた配位化合物のジクロロメタン溶液を用いた。

ブランク測定としては、測定側の光路上に設置されるセル、参照側(ダミー光学系)の光路上に設置されるセルの両方にジクロロメタンをセットし、切替型円偏光生成手段の4分の1波長板の軸を偏光子に対し+45度の角度に設定して、左円偏光における吸収スペクトルの測定を行った。その後、偏光子に対し4分の1波長板を-45度の角度に回転させて、右円偏光での吸収スペクトルを測定した。こうして得られた左と右の円偏光における吸収スペクトルの差をベースラインとした。

【0038】

次に測定側の光路上に設置されるセル、参照側(ダミー光学系)の光路上に設置されるセルの両方のセルに試料(ビス亜鉛ポルフィリン二量体にR-(+)-1-ナフチルエチルアミンを配位させた配位化合物のジクロロメタン溶液)をセットし、ベースライン測定と同じ測定を行った。得られたスペクトルからベースラインを差し引いてCDスペクトルを得た。得られたスペクトルは図7に示したものであり、専用のCD測定装置で測定して得られるものと基本的に同一であることが確認できた。

40

【図面の簡単な説明】

【0039】

【図1】ダブルビーム型の分光光度計の概略構成図

【図2】本発明にかかる第1実施形態の光学系付属品の概略構成図

【図3】本発明にかかる第2実施形態の光学系付属品を取り付けた分光光度計の概略構成

50

図

【図4】第2実施形態の装置を用いた円二色性測定の説明図

【図5】本発明にかかる第3実施形態の光学系付属品を取り付けた分光光度計の概略構成

図

【図6】第3実施形態の光学系付属品の左右円偏光切替機構の説明図

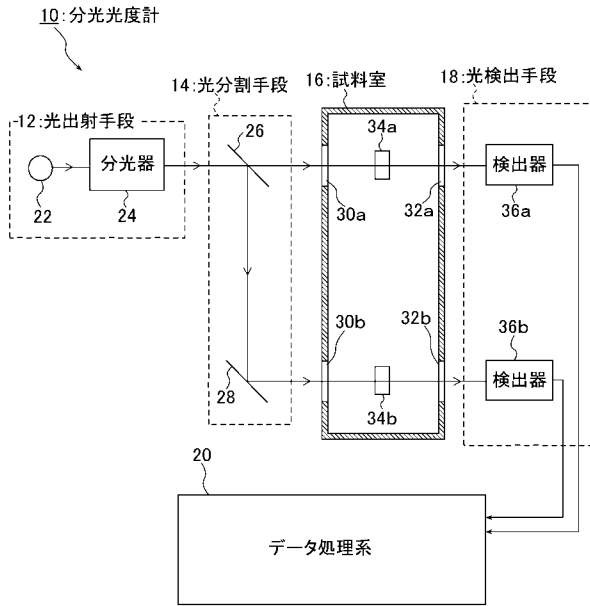
【図7】円二色性スペクトルの測定結果を示すグラフ。

【符号の説明】

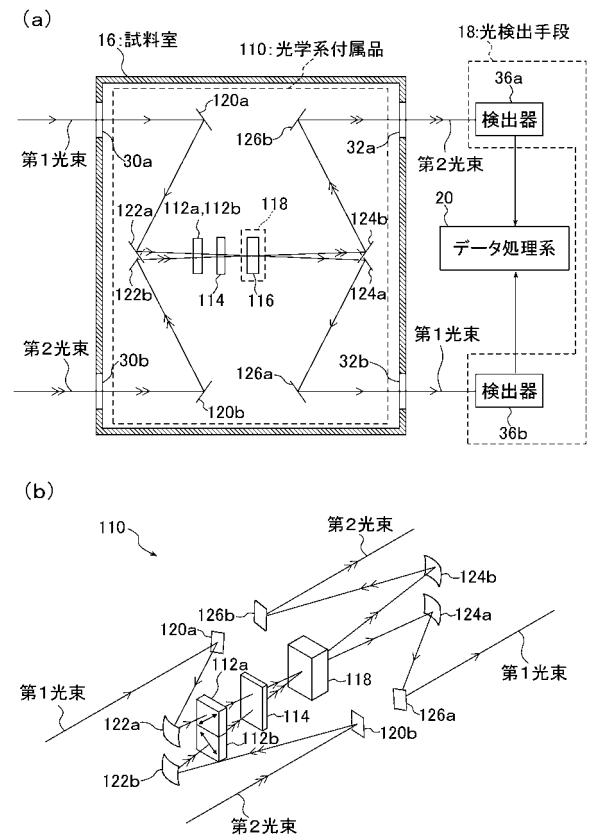
【0040】

10	分光光度計	
12	光出射手段	10
14	光分割手段	
16	試料室	
18	光検出手段	
20	データ処理系	
110	第1実施形態の光学系付属品	
112 a, b	偏光子	
114	4分の1波長板	
118	試料保持手段	
210	第2実施形態の光学系付属品	
214 a	第1の試料保持手段	20
214 b	第2の試料保持手段	
216 a	左円変更生成手段	
216 b	右円偏光生成手段	
310	第3実施形態の光学系付属品	
312 a	切替型円偏光生成手段	
316 a	試料保持手段	
324	ダミー光学系	

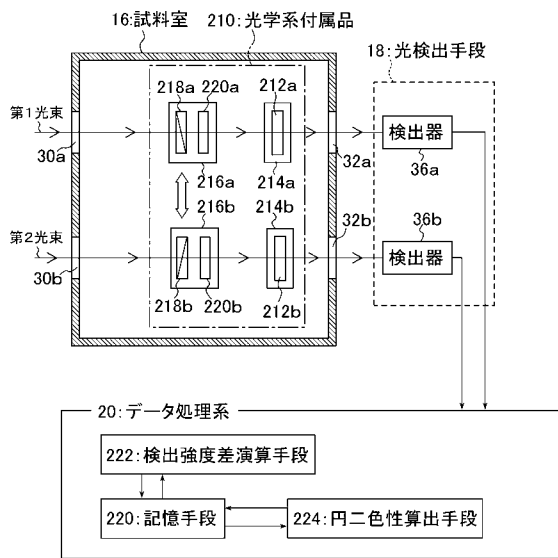
【図1】



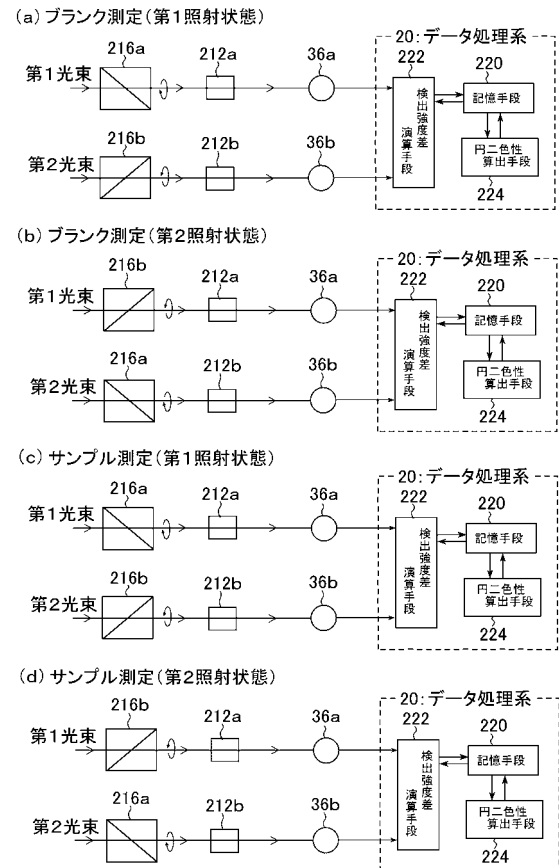
【図2】



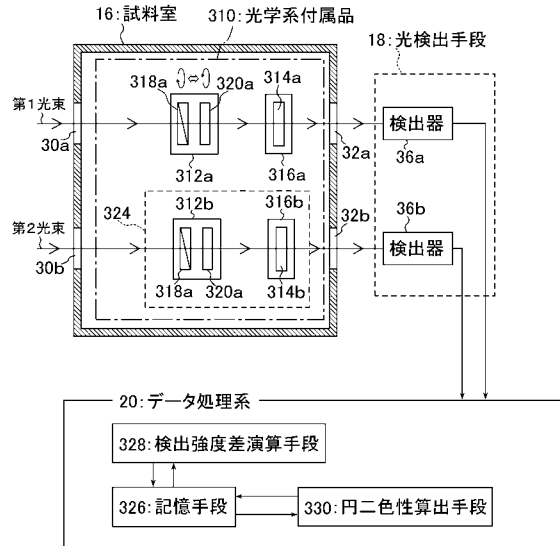
【図3】



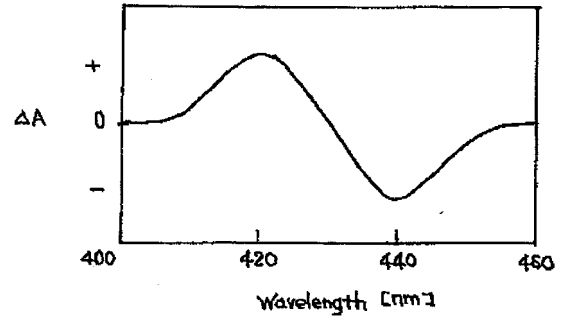
【図4】



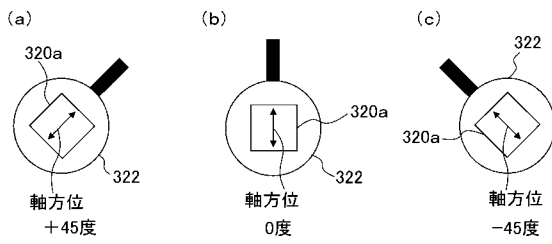
【図5】



【図7】



【図6】



フロントページの続き

- (72)発明者 鈴木 仁子
東京都八王子市石川町2 9 6 7 番地の5 日本分光株式会社内
- (72)発明者 永森 浩司
東京都八王子市石川町2 9 6 7 番地の5 日本分光株式会社内
- (72)発明者 真砂 央
東京都八王子市石川町2 9 6 7 番地の5 日本分光株式会社内
- (72)発明者 和田 明生
東京都八王子市石川町2 9 6 7 番地の5 日本分光株式会社内

審査官 横尾 雅一

- (56)参考文献 実公昭4 1 - 0 2 4 1 5 3 (J P , Y 1)
特開平0 2 - 1 8 3 1 4 2 (J P , A)
特開平0 9 - 0 6 1 4 1 4 (J P , A)
特表平0 8 - 5 0 9 2 9 5 (J P , A)
Z.Rosenzweig, E.S.Yeung, Laser-Based Double-Beam Circular Dichroism Detector for Liquid Chromatography, Applied Spectroscopy, 1 9 9 3 年1 2 月, Vol.47, No.12, p.2017-2021
- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
G 0 1 N 2 1 / 0 0 - 2 1 / 6 1
G 0 1 J 3 / 4 4 7
J S T P l u s (J D r e a m 2)