U.D.C. 〔681.785.423:681.322-181.48〕:543.422.5/.6.087.9

分光光度計のユーザープログラム化

User-programmable UV-VIS Spectrophotometer

遠山恵夫* *Shigeo Tôyama*
秋友信雄* *Nobuo Akitomo*

理化学機器分析装置である分光光度計は化学分析の分析手段として広く普及しており，また使用目的も吸光分析，反射測定，色彩計算など多岐にわたっている。一方分析の自動化に対する要望も急増している。このため従来の分光光度計はマイクロコンピュータ化を進め，分析機能を増やすことで対処してきたが，必ずしもすべての分析目的を満足させるものではなかった。

ユーザーが真に望む分析装置は，多機能形よりも自分の分析手段に対し操作が簡単な，あるいは自動化された分析装置である。この目的に応じて個々の分析機能をユニットプログラム化し，ユーザーがBASIC言語のプログラムで複数の分析機能を組み合わすことのできるユーザープログラマブルな分光光度計を製作した。また，BASIC言語を理解しなくても基本的な分析が容易に行なえるよう10種以上の分析プログラムをあらかじめ用意し，CRTとの対話によって操作を行なうようにした。ユーザープログラム化のためベーシックレベル3を導入した。

パーソナルコンピュータの機能を持つ分光光度計としてデータのファイル，CRTへの表示など従来装置にはない特長を持たせることができた。

1 緒　　言

分光光度計はpHメータなどと同じ程度に湿式分析の手段として広く普及している。使用される分野としては製薬会社に代表される溶液の吸光分析が大半を占める。一方最近のマイクロコンピュータ制御技術の発展に伴いデータ処理を中心とする機能の大幅向上が図られた。

しかし個々の機能を連動して自動化を図るまでには至っていない。そこで分析の自動化を目的とし，ユーザーがBASIC言語で分光光度計を自由に制御できるユーザープログラマブルな機能を持った装置について実用化を具体的に検討した。

2 マイクロコンピュータ化

最近のエレクトロニクス技術の著しい発展に伴い，分光光度計のマイクロコンピュータ制御が急速に普及した[1]。分光光度計におけるマイクロコンピュータ処理の利点を大別すると，(1) 測定精度の向上，(2) 機能の向上の2点となる。

(1)　測定精度の向上

分光光度計は光検知器(主に光電子増倍管)の出力電流を用いて透過率，吸光度(透過度の逆数の自然対数変換値)，外部出力などの演算処理を行なうものであるが，従来の装置ではアナログ信号処理で行なっていた。これらの正確度は回路構成中の調整バリオームによる所が多く，しかもこれらの調整値は恒久的なものではなく経時的変動があり得る。一方マイクロコンピュータによるディジタル演算処理では，一度正しくプログラムされた演算は常に同一の結果を出す。また，分光光度計の基本的機構部である波長設定機構部でもマイクロコンピュータ制御方法の場合にはオペレータによる設定誤差や波長の読み取りエラーはなくなる。このようにマイクロコンピュータ処理は分光光度計の測定正確度又は再現性の向上に大きく貢献している[2),3)]。

(2)　機能の向上

マイクロコンピュータは元来ディジタル制御を目的としたものである。分光光度計の機構系は波長駆動機構系に代表されるようにすべてディジタル制御に置き換えられるといえる。したがって，マイクロコンピュータを内蔵した分光光度計が従来の装置に比較し走査速度の選択に自由度が増したり，スリット設定が正確に行なえるようになったことは当然の結果である。

むしろ最大の機能として挙げるべきものにダブルビーム分光光度計のバックグラウンド補正の自動化がある。単に光学的アンバランスの補正だけでなく，セルブランクのスペクトル補正や，実際に測定したい試料の吸光度スペクトルだけを記録することも可能になった。

以上の利点は，分光光度計を製作するメーカー側で機構系，電気回路の単純化という面で大きな貢献をしたが，ユーザー側から見れば従来の装置の機能が向上した程度で特に画期的な新技術というべきものは含まれていないといえる。特にマイクロコンピュータという新技術はユーザーにとって非公開な存在であり，ユーザーが内部の記憶メモリを利用してプログラムを組み替えたり，自分の目的に合ったプログラムを組むことは全くできなかった。

3 ユーザープログラマブル

パーソナルコンピュータはユーザー独自に自分個有のプログラムを組むことができるもので，BASICで代表される高級言語を使用してプログラムを組むことができる。

図1はマイクロコンピュータを内蔵した紫外可視域用の分光光度計(日立228形ダブルビーム分光光度計)で，特にパーソナルコンピュータの機能を持つものである[4)]。この装置の特徴は，通常は従来の分光光度計として使用するが，ユーザープログラマブルな状態でも使用できることにある。

図2は本装置のメモリマップを示す。本装置は分光光度計の制御部を日立パーソナルコンピュータ ベーシックマスターレ

* 日立製作所那珂工場

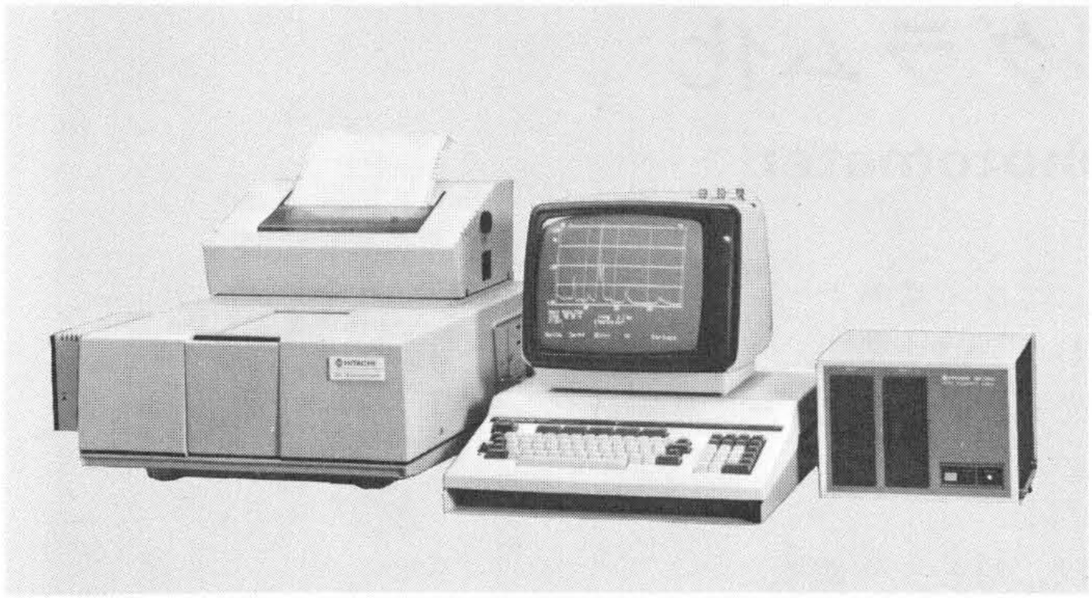


図1　日立228形ダブルビーム分光光度計　ユーザープログラム機能を持った紫外可視分光光度計で，制御部はパーソナルコンピュータとしても使用できる。

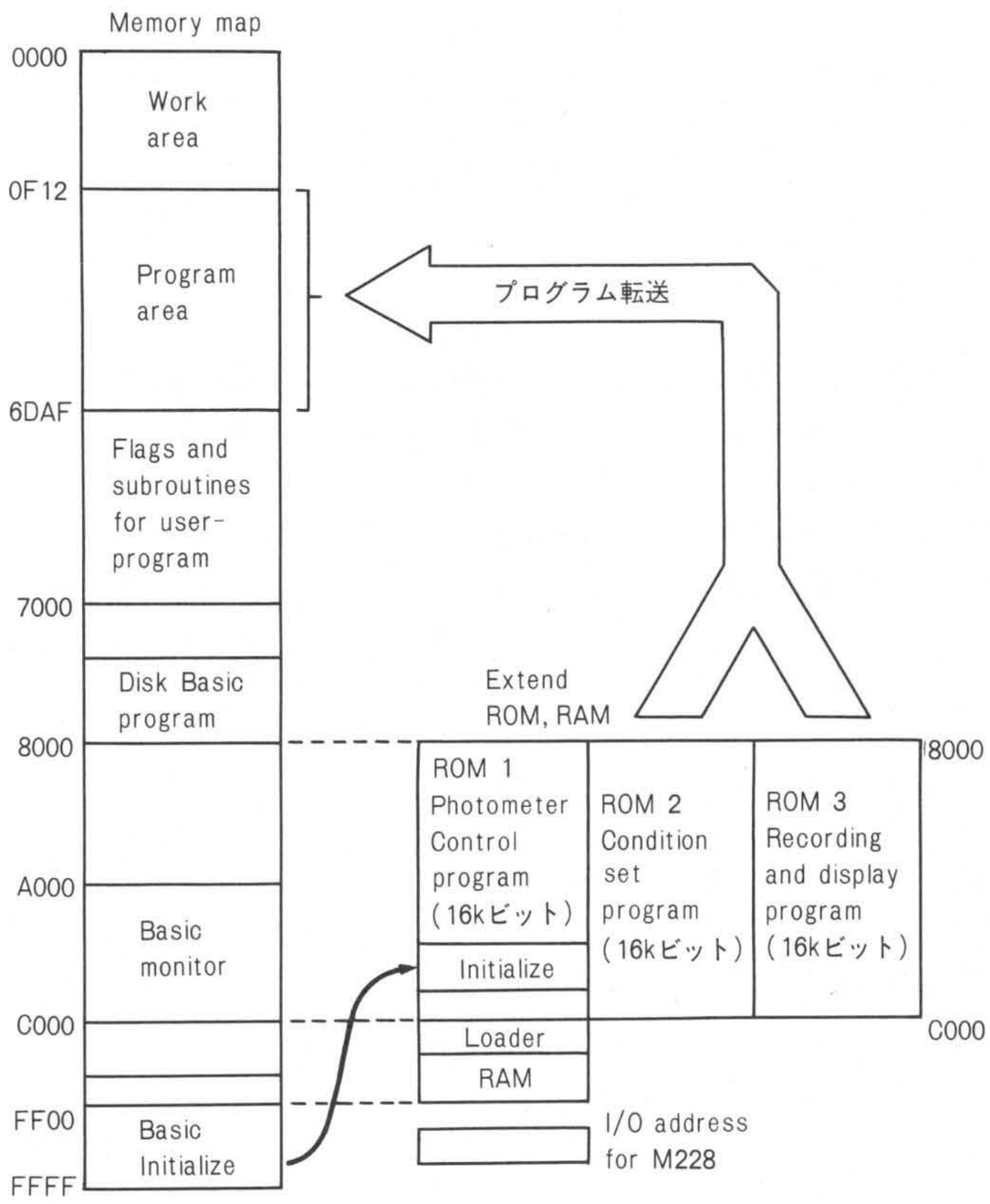


図2　メモリマップ　6DAF～6FCFのエリアには，分光光度計個有の共通フラグ，共通プログラムが格納され，ユーザーが自由に使用することができる。

ベル3 マークIIを使用している。本パーソナルコンピュータはBASIC言語とともに機械語が使用でき，分光光度計の機構系制御，信号処理，記録計出力処理などの高速制御を必要とする部分を機械語でプログラム化した。本パーソナルコンピュータのメモリ空間は64kバイトであるが，より多くの機能を持たせるため光度計制御用のプログラムを16kバイトずつの3個のバンクに分けて同一アドレスに配置し，バンク切替方式で交互にプログラムをアクセスしている。

電源が入ると，まずBASICのイニシァライズが実行され，拡張ROM(Read Only Memory)の第1のバンクを選びプログラムを実行する。第一のバンクに格納されているプログラムはすべて機械語で書かれており，分光光度計は波長の校正やベースラインの補正を自動的に行なう。また，**図2**の中の6DAF～6FCFの共通メモリ部に分光光度計を制御する共通プログラムや現在の測定パラメータを格納する。

イニシァライズが終了するとLOADERで第2，第3のバンクに格納されたBASIC言語のプログラムをプログラムエリア(**図2**の中の0F12～6DAFのアドレス部)に転送し，これを実行する。

これらの信号処理はすべてオペレーティングシステムで時系列的な並列処理によって行なわれる。特にBASIC言語で作成したプログラムは実行を一度中断(BREAK)し，ユーザーが自由にプログラムを変更して再度スタートすることができるように共通メモリ部の内容をすべてユーザーへ公開して

表1　専用プログラム　ユーザープログラム用として公開している専用プログラムで，ユーザーはこれらを自由に組み合わせて目的の分析を自動化することができる。

No.	項目	個数	代表例
1	パラメータのセット，リセット	51個	測定モード，スキャンスピード
			プロッタの移動位置
			アクセサリ用出力端子のセット，リセット
2	データの読み出し	14個	測光値，波長，経過時間
			記憶データの測光値
			アクセサリー用入力端子の状態
3	実行命令	24個	波長のセット
			ハードコピー，プロッタ移動の実行
			バルブの開閉

表2　拡張プログラム　ユーザーが独自に製作するのが困難なプログラムはあらかじめ完成したプログラムとして供給する。

拡張プログラム	項目	内容
A　定量演算	濃度直読	C＝k×Abs＋B 一点検量線作成
	検量線曲り補正	数値入力による作表 標準試料による作表
	相関	直線回帰，相関係数
	統計計算	平均値，標準偏差，変動係数
B　スペクトル解析	2波長プログラム	(WL2)－(WL1),(WL2)/(WL1)
	3波長プログラム	ピークハイト
	3波長解析	ピークハイト，面積
	ピーク自動検出	スペクトル，時間変化
	一定間隔印字	一定波長間隔
		一定時間間隔
	微分スペクトル	1，2，3，4次微分
C　レートアッセイ	——	一度記憶したデータを使用
D　条件自動設定	——	20項目/ディスケット
E　ユーザープログラム用	40文字画面用 80文字画面用	ユーザープログラム 自動スタート
F　データファイル	ファイル	10項目/ディスケット
	ロード	10項目/ディスケット
	四則演算	＋－×÷，aA＋bB
G　色彩計算	色彩計算	三刺激値，明度指数， クロマティクネス指度，色度座標
	色差	——

いる。

すなわち，BREAKキーが押され，NEW命令で制御プログラムが消されても共通メモリ部に記憶していた共通プログラムや分光光度計の測定状態を示すパラメータはそのまま残っている。共通メモリ部に記憶している内容を大別すると，(1)測定用パラメータ，(2)測定データ読み出し用ユーザー関数，(3)実行命令，に分けられる。

これらの共通メモリの格納番地やユーザー関数の使い方，更には実行命令の実施方法をユーザーに公開し，しかもBASIC言語で自由にプログラムを組むことができるようにすることで本システムはユーザープログラマブル化を図った。

表1は本システムにおいて共通メモリに格納している専用プログラムの代表例をまとめたものである。

4　機能の拡張

これまで述べたユーザープログラマブルな機能は，単にユーザーにとってプログラム作成の可能性を与えただけでなく，メーカー側にとっても機能拡張に有効な手段として使用できる。

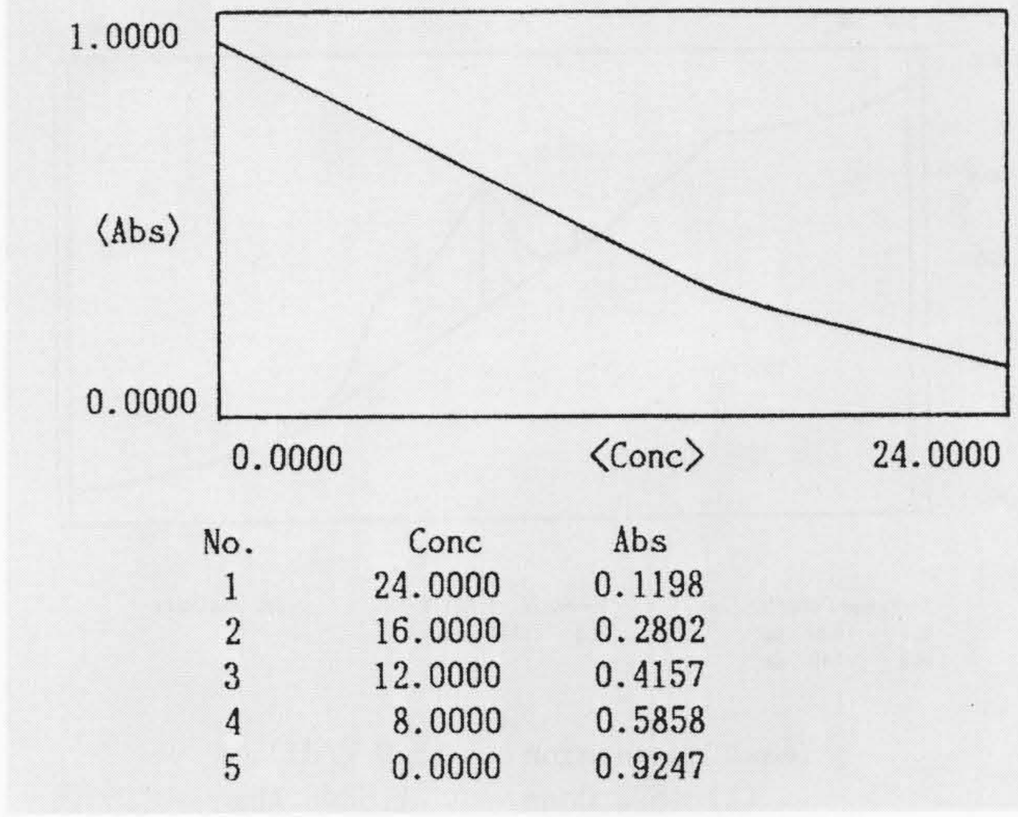
表2は**表1**に示す専用プログラムを使用して作成した拡張プログラムの例を示す。これらの拡張プログラムはミニフロッピーディスクを用いてロードすることができる。また，測定条件や拡張プログラムの演算パラメータをディスケットにファイルしておけば，次回からは自動的に同一条件が設定できる。

図3はオペレータがキー入力した濃度値と光度計が実測した吸光度値の組合せを5点記憶し，CRTに検量線を作画したもののハードコピーで，すべてユーザープログラムにて作成した。

図4はキー入力した濃度値と実測した吸光度値を印字し，CRTに直線回帰検量線を作画し，相関係数を計算して印字したものである。また，CONC＝(1/K)＊Abs＋(−B/K)を印字することで未知濃度試料の濃度(B/K)を標準添加法で求めることができる。**図3**の例の場合の検量線，**図4**の例の濃度値と吸光度の組み合わせは毎回ディスケットに保存されいつでも再度読み出すことが可能である。

図5は吸光度スペクトルを記憶し，所定の2波長間の面積を算出した例を示す。

図6は所定の波長区間の吸収ピークを自動判定し印字した例を示す。一般に**図3**，**図4**の例に示すような波長固定での



No.	Conc	Abs
1	24.0000	0.1198
2	16.0000	0.2802
3	12.0000	0.4157
4	8.0000	0.5858
5	0.0000	0.9247

注：略語説明　Conc(濃度直読)，Abs(吸光度)

図3　検量線の作画　試料濃度を入力すると検量線を作成し，CRTに表示する。

No.	Abs	Conc
1	0.0367	0.0000
2	0.6027	80.0000
3	0.6338	90.0000
4	0.6896	75.0000
5	0.7012	80.0000
6	0.7009	85.0000
7	0.7007	75.0000
8	0.7548	89.0000
9	0.7567	96.0000
10	0.8824	99.0000
11	0.8767	65.0000
12	0.6072	87.0000
13	0.9481	87.0000
14	1.1873	123.0000
15	0.9344	100.0000
16	3.2222	256.0000
17	3.1306	200.0000
18	3.4279	198.0000
19	3.3453	178.0000
20	2.2664	150.0000
21	1.5114	126.0000
22	1.5189	128.0000
23	1.4741	123.0000
24	1.4742	120.0000

K＝　0.0173　：　B＝−0.5917　：　r＝ 0.93771　：　n＝ 24
Conc＝　57.9234Abs＋(　34.271)

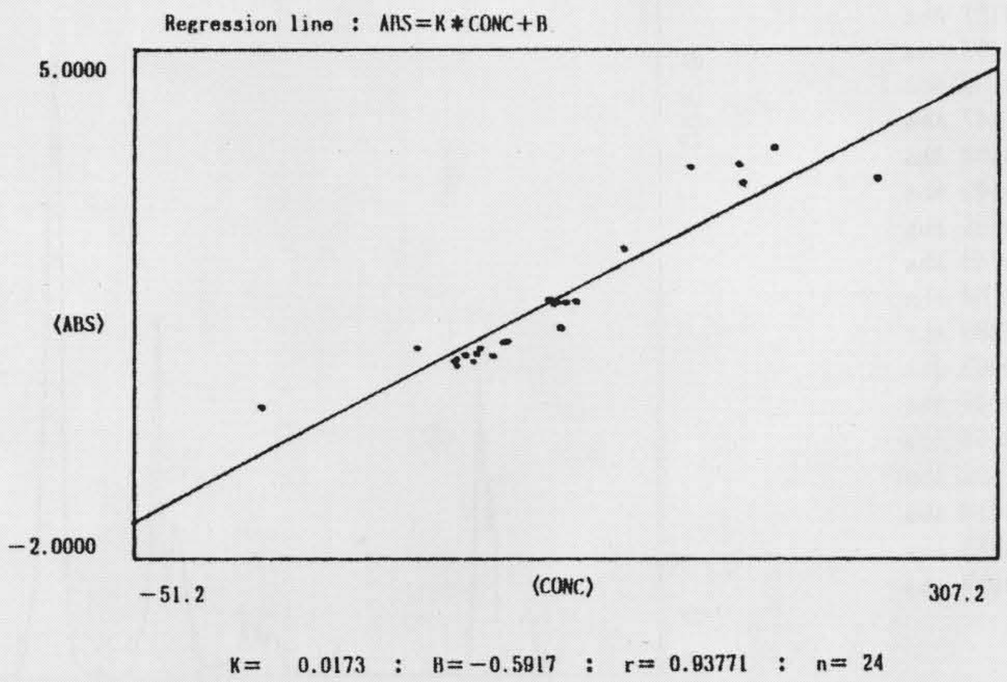


図4　回帰検量線の作画　試料濃度と吸光度のばらつきを一次相関で求め相関図及び相関係数(r)を出力表示する。

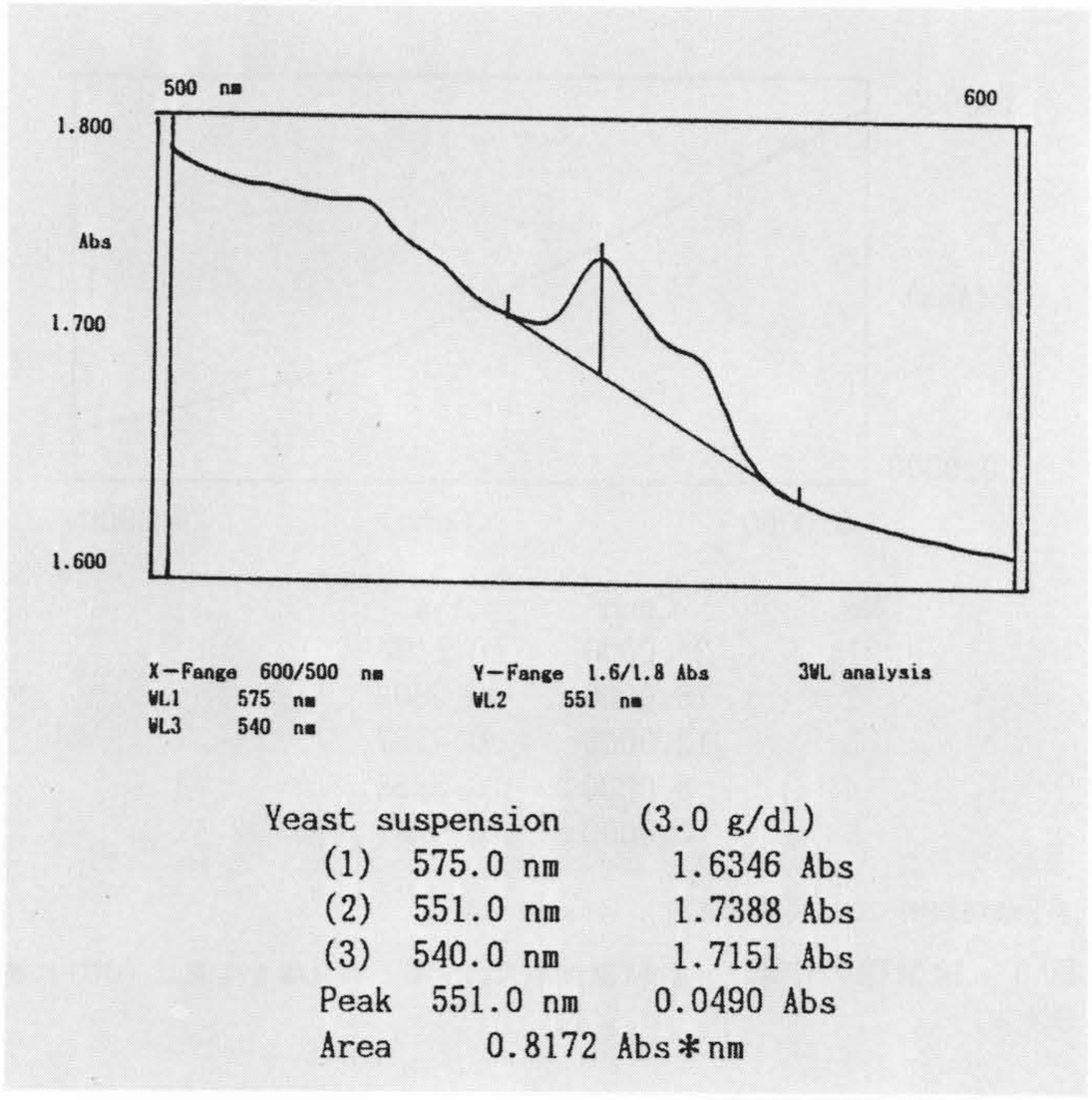


図5 面積計算のプログラム ベースラインが傾斜しているスペクトルを用い，吸収のピーク値や面積を求めるプログラムである。試料はパン酵母のイースト菌溶液で懸濁がはげしい。

測光値読みとり作業はプログラム作成上比較的簡単である。反面，スペクトルの処理演算はデータの量が非常に多いこと，スペクトルの画面表示に時間がかかること，(ピーク判定などの)演算処理を独自に考案する必要があることなどの理由でユーザー独自でプログラムを完成させるのが困難な場合が多い。特に微分スペクトル演算に代表される波形処理はデータの取り込み間隔などハードオリエントな制約が多く，これらの処理は専門のプログラマが作成したものを利用する方が効率的であると考える。本システムでは**表2**に示すように，波長プログラム，微分スペクトル，データ間の四則演算，色彩計算などについては，あらかじめプログラムを作成してある。

これらの波形処理プログラムはそれぞれのディスケットに記憶してあり，また演算そのものもメモリに一度記録したスペクトルを用いて行なう。ディスケットの交換は通電状態で行なえるので，一度スペクトルを記憶しておけば同一のデータを用いて微分，色彩計算，四則演算，データのファイルなどを重複して演算することができる。

5 繰返し操作のプログラム化

分光光度計のユーザーにとって微分や四則演算などの特殊機能はほとんど日常の分析には無縁なもので，実際に使用する業務から考えると，(1)所定波長の測光値を読む，(2)所定波長区間のスペクトルを記録する，の2項目が大半を占める。

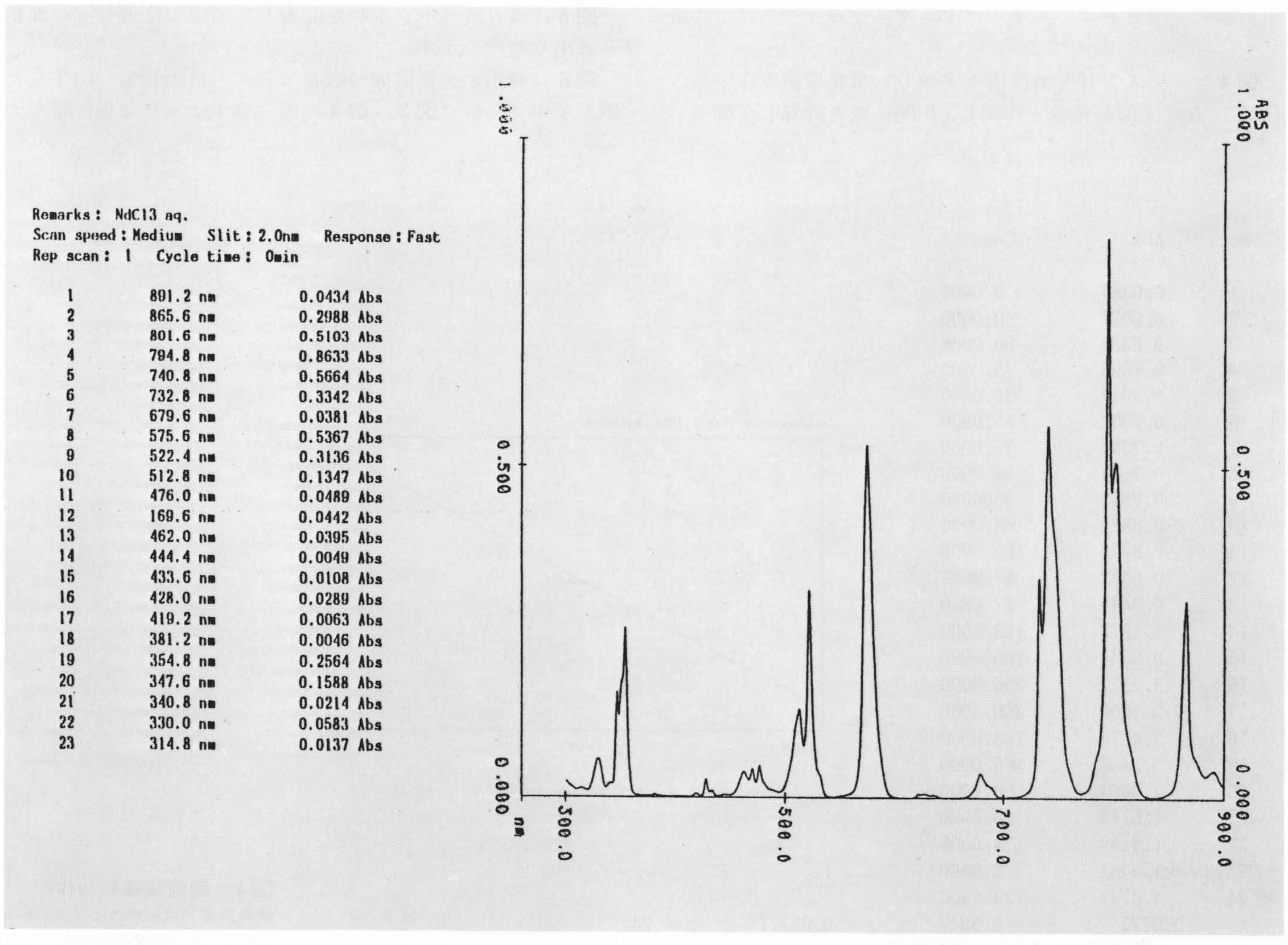


図6 ピーク自動判定プログラム するどいピークは勿論，微細なピークも検出することができる。試料は塩化ネオジウム水溶液

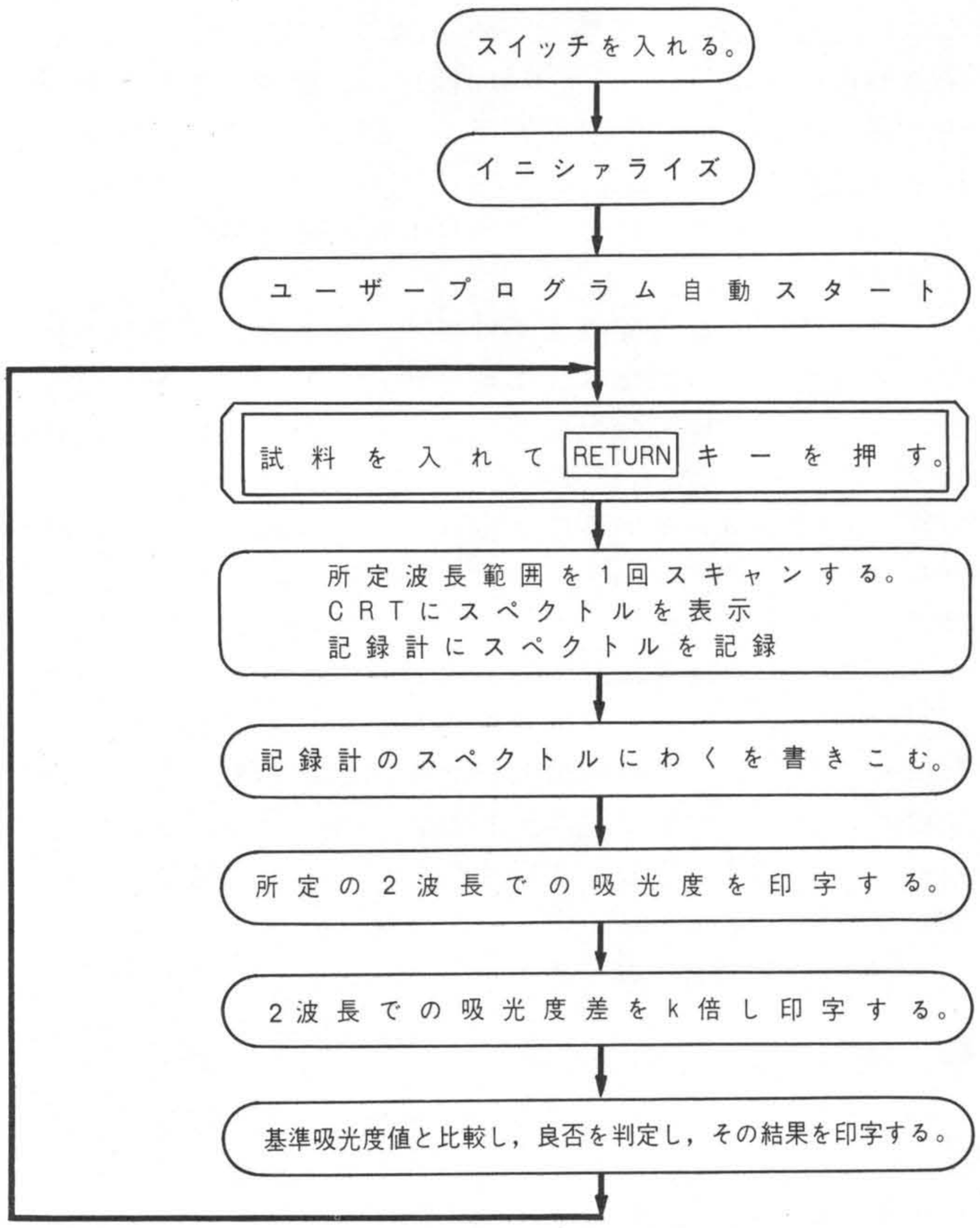
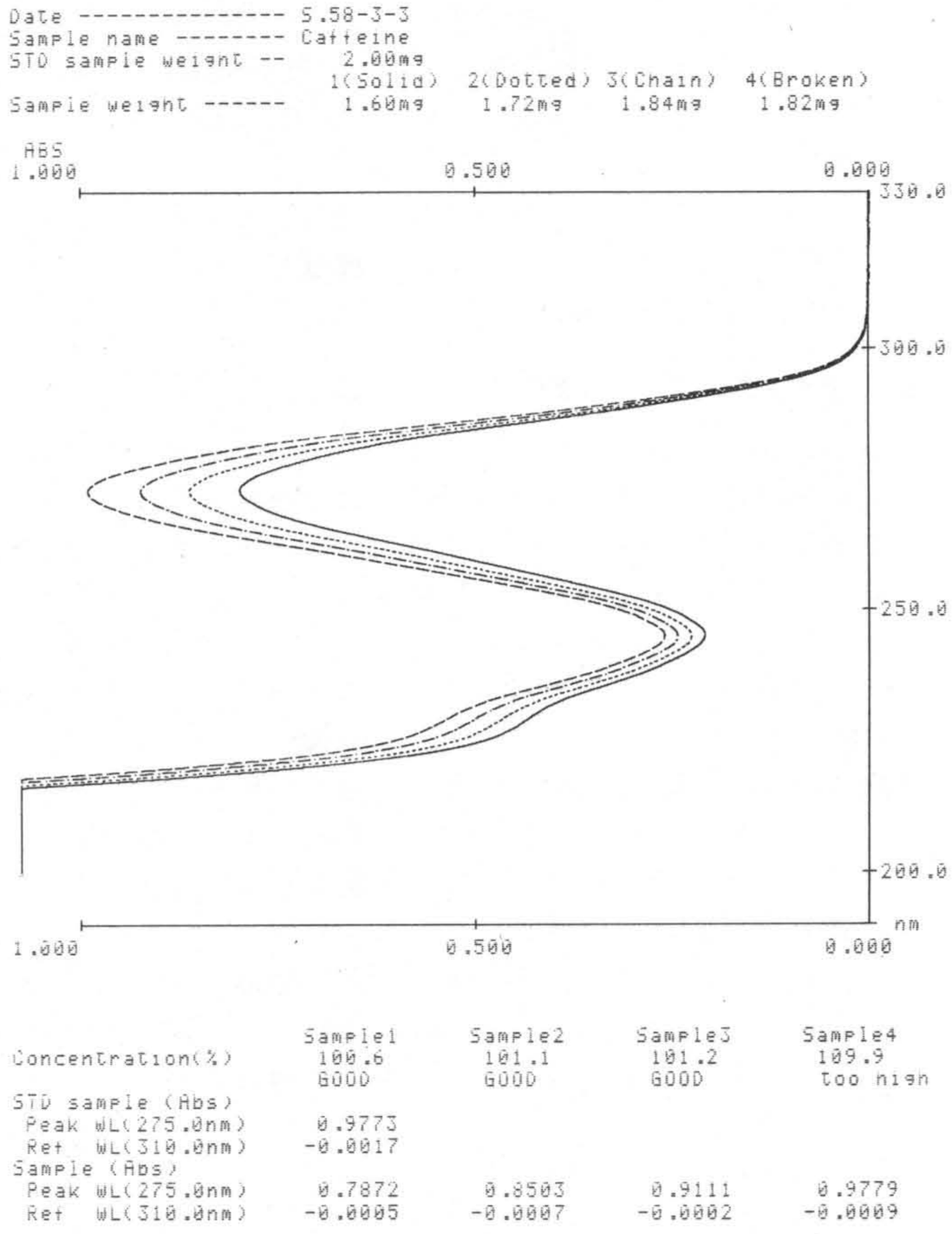


図7　ユーザープログラムの一例　　オペレータは試料をセットして“RETURN”キーを押すだけでよい。個々の作業は勿論，全体の分析業務は全て自動化できる。



	Sample1	Sample2	Sample3	Sample4
Concentration(%)	100.6	101.1	101.2	109.9
	GOOD	GOOD	GOOD	too high
STD sample (Abs)				
Peak WL(275.0nm)	0.9773			
Ref WL(310.0nm)	-0.0017			
Sample (Abs)				
Peak WL(275.0nm)	0.7872	0.8503	0.9111	0.9779
Ref WL(310.0nm)	-0.0005	-0.0007	-0.0002	-0.0009

図8　2波長吸光度差測定の例　　カフェインの吸収スペクトルを記録し，検定量が規定の範囲にあることを調べるユーザープログラムの一例を示す。

本システムではこれらの業務はユーザー関数として準備している。次にそのプログラムの一部を示す。

```
110  DTA1=USR2(480.0)
120  DTA2=USR2(370.0)
130  PRINT DTA1, DTA2, (DTA2-DTA1)*25.3
```

ここに110，120行目は480nmと370nm(波長)での測光値を読み出すプログラム，130行目は測光値及び2波長差の25.3倍値を印字するものである。

また，所定波長区間を自動スキャンし，スペクトルをCRT及び記録計上に表示し，わくを自動書き込みするという一連の業務も，SCAN=USR3(6)という一行のプログラムにまとめられている。

ユーザーはこれらの単独のプログラムを継ぎあわせることでユーザー専用のプログラムを作成することができる。

図7はその一例のフローチャートである。このユーザープログラムを用いれば，オペレータは試料を入れて“RETURN”キーを押すだけで良い。また，測定条件などもユーザープログラム上からすべて自動設定されるので，測定の度ごとに条件設定が正しいかどうかチェックする必要がなくなる。日常繰返して操作する測定内容をこのようにプログラム化しておくことで，測定手順の間違いがなくなる。この例のように一試料の測定手順を**図7**に示すような測定手順で次々と自動的にサンプリングして測定したい場合が多い。

図8は製薬工業の分野で日常繰返して測定する品質管理用分析作業をプログラム化した例を用いた測定データである。この測定では被検定試料を一定量溶解し，275nmと310nmの2波長において吸光度を求め，その吸光度差が規定の範囲にあるかどうかを検定している。しかし，被検定試料の量が極めて微量であること，溶媒の量は常に一定にしないと測定に手間がかかること，などから試料溶液の濃度(重量比)は試料ごとに変る。したがって，測定して得られた吸光度差は濃度によって補正し，正規化しなければならない。

図8の実測例ではこれらの操作を次の手順で操作させている。①ベースラインの補正，②日付，試料名，標準試料の秤量値(W_S)を入力し，標準試料をセットする。〈275nm，310nmの2波長吸光度差を求めH_Sとする。〉③被検定試料の秤量値(W_T)を入力し，試料をセットする。〈330～200nmの範囲のスペクトルをCRT画面に表示し，記録計に記録する。記録後，測光軸と波長軸のわくを書き込む。275nm，310nmの2波長吸光度差を求めH_Tとする。(H_T/H_S)・(W_S/W_T)・100を求め，結果が95～105%の範囲であればgood，範囲以下であればtoo low，範囲以上であればtoo highと表示し，実測吸光度とともに印字する。〉④次の操作をオペレータに決めさせる。〈同種の試料の場合は③へ，標準試料を変更する場合は②へ，ベースラインの再補正を行なう場合は①へ戻る。〉

以上の操作の内，〈　〉で囲われた操作はすべて自動的に行なわれる。また，同種の試料を続けて測定する際には，**図8**の通り，重ね書きで記録され，しかも記録線の形状も実線，点線，鎖線，破線と自動的に切り替わる。いうまでもなく，本プログラムを実行することで吸光度モード，分光器のスリット幅，スキャンスピードなどの測定条件はすべて自動設定される。プログラマは**表1**の専用プログラムと，一般のBASICプログラムの組み合わせることで，分光光度計の制御と画面表示，記録計表示プログラムを作成してゆくことができる。

プログラム作成後は，常に同一の測定手段で操作を行なうことができ，しかも操作途中には分光光度計個有の操作(波長設定や走査開始手順)がいっさいなく，CRT画面との対話で秤量値を入力するだけで良い。

この実例は日常繰返し測定している操作をプログラム化しただけでなく，分光光度計の操作を理解していなくても常に正しい測定ができる利点がある。

6 自動サンプリングのプログラム化

5章の例の場合でも，測定中は終始オペレータが装置についている必要があり，省力化の目的には合わない。

試料の自動サンプリングも含めた測定手順の自動化を行なうためには，分光光度計だけの制御では不十分で，サンプリング機構も含めたシステム構成が必要となってくる。本システムでは最大5個までの角形10mmセルを並べ，これらのセルをCPU制御信号で次々と入れ替える自動セル切替装置や，最大100本まで試験管を並べ，これらの試験管から試料を次々と自動吸引するサンプラなどが準備されており，目的に応じて選択できる構成になっている。自動セル切替装置におけるセル番号の指定プログラム，自動吸引サンプラの吸引時間の指定，測光値読み出しまでの待ち時間(delay time)の指定などは各々ユーザー関数として関数化されており，ハードウェアの内容を知らなくてもプログラムが組めるようになっている。次に自動セル切替装置を用いたプログラムの実例を示す。

```
200  FOR J=1 TO 5
210  CELL=USR 3(J)
220  DTA=USR 4(5.0)
230  PRINT DTA
240  NEXT J
```

210行目はJ(1～5)番目のセルを光路にセットするプログラム，220行目は光路にセットしたあと5秒間待ち時間をとったあと測光値を読み出すプログラムである。

上記の例に示したものは，本システム用に特別に設計製作した自動セル切替装置や自動吸引サンプラを用いる場合にだけ使用できる。一方，分光光度計を測定器とし，測定系の自動化を進める場合，光度計メーカーが用意した自動サンプリング機構だけでは不十分で，分析目的や管理手順に合わせた独自のサンプリング機構が必要となる場合が多い。例えば，試料の混合，加熱，秤量なども含め自動化したい場合がある。しかし，光度計側から見れば，これらの用途をすべて満足させる前処理システムを製作することは困難である。

この要望を解決する手段として本システムでは外部入出力用ターミナルを設け，ユーザープログラムの上から外部システムの状態を読み取ったり，外部システムへ制御信号を送る外部システム接続用端子と，外部の測定器(例えばマイクロコンピュータ接続可能な天秤)から測定値を読み取るためのRS-232C回線を準備している。外部システム接続用端子には5個の状態読み取り(＋5Vか0Vか)ラインと5個の制御信号出力(＋5Vか0Vを出力する。)ラインが24ピンのコネクタ内に納められている。次にその例を示す。

```
400  EXT 2 =USR 7( 2 )
410  ACC 2 =USR 8( 7 )
420  1F ACC 2 = 0  GOTO410
```

400行目は外部システム接続用コネクタの2番端子を＋5Vに設定する命令で，この信号を受けて外部システムが起動し試料を自動処理して試料光束にセットする。410行目は7番端子の状態を読む命令で，外部システムが試料のセットが完了した信号を7番端子に与えるのを読み出す命令，420行目は7番端子が＋5Vになるまで410行目の状態読み出し命令を繰返す命令である。このプログラムを用いることで，未知の外部システムと分光光度計が特定のフォーマットで信号をやりとりし，システム全体として自動的に測定を行なうことができるようになる。

ところで，これまで例を挙げて述べてきた測定手順の自動化やシステムの自動化は，本システムが初めて実現したものではない。過去にも分光光度計と前処理装置を含めての自動化プログラムは幾度も試みられ，また実際に稼動もしている。しかし，従来のシステムでは全システムを制御するには専用のコンピュータやシーケンスコントローラが必要で，分光光度計はその中でも検出器としての役割に限られていた。

本システムの特長は，分光光度計の制御部がそれ自体でパーソナルコンピュータの機能を持ち，しかも外部システムの制御や状態監視まで可能にしたことにある。もちろん，分光光度計の制御，測光値読み出しもユーザープログラム化している。ユーザーが自分の測定手順に従い前処理機構も含めてプログラムを作成し，そのプログラムをミニフロッピーディスケットに登録しておくことができる。

7 結　言

今やマイクロコンピュータを内蔵していない理化学装置を探すのが困難なほど広くマイクロコンピュータが普及した。しかしプログラムの内容や操作手順などはすべてメーカーが独自に製作したもので，ユーザーには全く公開されていなかった。

今回報告した分光光度計は，共通プログラムの公開，外部システム用入出力端子の制御プログラムの公開，及びそれらの基本プログラムのユーザー関数化を行なったもので，しかも分光光度計の制御部自身がパーソナルコンピュータの能力も合わせ持つ特長を持ち，今後のマイクロコンピュータ内蔵機器の進むべき指針となるものである。

本装置の開発を着手する時点では，世界中の分光光度計メーカーがマイクロコンピュータの内蔵を実施し終えていた。しかしその実態は機能の向上がすべてで，ある意味ではメーカー間での機能向上合戦を行なったにすぎなかったともいわれている。

本装置の開発に当り，最大の目標として掲げたテーマは，装置をユーザープログラマブルな状態にすることで，BASIC言語を用い，基本となるプログラムをユーザー関数化することにあった。本装置を初めとしてユーザープログラマブルな装置が広く普及し，分析の精度向上，ラボラトリオートメション化に寄与することを期待している。

参考文献

1) 前田：「マイコンを応用した最新分析機器」化学技術誌MOL，昭和54年6月号，1(1979)
2) 前田，外：第12回応用スペクトロメトリー東京討論会要旨集，1A01(1976)
3) 綱沢：技術者におくる新しい分析技術講演要旨，大阪工研協会，21(1981)
マイクロコンピュータ導入により，どのような機能が付加されたかについて述べている。
4) 遠山：技術者におくる新しい分析技術講演要旨，大阪工研協会，7(1982)
本文に準ずる内容について述べたものである。