装置と技術

分光光度計のユーザープログラマブル化*

遠山 恵夫・秋友 信雄

日立製作所那珂工場 茨城県勝田市市毛882 (〒 312)

(1982年12月23日受理)

User-programmable UV-VIS spectrophotometer

Shigeo TOHYAMA and Nobuo AKITOMO

Hitachi Naka Works, 882 Ichige, Katsuta, Ibaraki 312

(Received December 23, 1982)

1. マイクロコンピュータの内蔵

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、a. 測定精度の向上、b. 機能の向上の2点となる。

a. 測定精度の向上

従来のアナログ回路方式の信号処理では、透過度演算、吸光度演算(対数変換)、記録計出力などの回路構成の中に調整バリオームが必ず存在した。これら調整用バリオームの設定値は恒久的なものではなく経時的な変動があり得る。一方、マイクロコンピュータによる演算では、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、波長設定においても、マイクロコンピュータ制御方式の場合にはオペレータによる設定誤差はなくなる。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精度(再現性)の向上に大きく貢献している^{2,3)}。

b. 機能の向上

マイクロコンピュータは元来デ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

構に代表されるように全てデジタル制御に置きかえられると言える。従って、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べて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えるようになったことは当然の結果と言える。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のみならず、セルブランクのスペクトルを記憶し、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側において機構系、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言うべきものは含まれていないとも言える。特にマイクロコンピュータという新技術はユーザには非公開な存在であり、ユーザが内部の記憶メモリーを利用してプログラムを組みかえる事は全く出来なかった。

2. 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が独自に自分個々のプログラムを組むことができるもので、BASICで代表

* 本報告の一部は昭和57年度第18回応用スペクトロメトリー東京討論会(11月17日)で発表した。

Fig. 1. Block diagram of Hitachi Model 228 double beam spectrophotometer.

Fig. 2. Memory map.

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。

Fig. 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) で、特にパーソナルコンピュータの機能を有するものである⁴⁾。この装置の特色は、通常は従来の分光光度計として使用できるが、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。

Fig. 2 は本装置のメモリーマップを示す。本装置は機械語の他に BASIC 言語が使用でき、特に CRT への表示やキー入力操作などは BASIC 言語によってプログラムされている。64K バイトのメモリ空間に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 Bank に分けて同一アドレスに配置し、Bank 切換方式により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 のイニシャライズが実行され、拡張 ROM の第1の Bank が強制的に選ばれプログラムを実行する。第1の Bank に格納されているプログラムは全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う。また、Fig. 2 中の 6 DAF ~ 67000 (16進数) 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。

イニシャライズが終了すると LOADER により第2、第3の Bank に格納された BASIC 言語のプログラムをプログラムエリア (Fig. 2 中の OF 72 ~ 6 DAF 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全てオペレーティングシステムにより時系列的な並列処理により行なわれる。特に、BASIC 言語で作成したプログラムは実行を一度停止 (BREAK) し、プログラムを変更したあと再スタート (RUN) させることができる。

Table 1. Commands or subroutines for userprogram.

Item	Number of Commands and Subroutines	Examples.
1 Set or reset of operating condition parameters	5 1	<ul style="list-style-type: none"> • Photometric mode • Scanning speed • Controlling of X-Y plotter • Set, reset of I/O lines for external system.
2 Data readout	1 4	<ul style="list-style-type: none"> • Photometric data readout • Wavelength readout • Memorized data readout • I/O lines readout
3 Execute command	2 4	<ul style="list-style-type: none"> • Wavelength set • Hard copy • Controlling of flow cell unit • Controlling of auto cell changer

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た共通プログラムや現在の測定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)実行命令に別けられる。

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ム化を行っている。

Table 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。

3. ユーザープログラムの活用

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のみならず、メーカー側にとっても機能拡張にとって有効な手段として使用できる。

Table 2 は Table 1 に示した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している。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クにファイルしておけば、次回からは自動的に同一条件に設定される。

Fig. 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 に検量線を描画したものハードコピーで、すべてユーザープログラムにて作成した。

Table 2. Extended program.

Extend program	Item	
A Quantitative analysis	Concentration	$C = k \cdot \text{Abs} + B$, or Standard sample method
	Curvature correction	Table method or Standard sample method
	Correlation	Regression line
	Statistics	Mean value, SD, CV
B Spectrum analysis	2 WL program	$(WL2) - (WL1)$, $(WL2) / (WL1)$
	3 WL program	peak height
	3 WL Analysis	peak height, peak area
	Peak detection	
	Auto print	
	Derivative	
C Rate assay		
D Auto condition set		
E User program		
F Data file	File Load	
	+ - * ÷	
G Color analysis	Color analysis	
	Color difference	
H Extended User program

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

Fig. 3. Graph of working curve.

Fig. 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描画し、相関係数を計算して印字したものである。また、 $\text{Conc} = (1/K) \cdot \text{Abs} + (B/K)$ を印字する。これにより未知濃度試料の濃度 (B/K) を標準添加法により求めることができる。

Fig. 3 の例の場合の検量線、Fig. 4 の例の濃度値と吸光度値の組み合わせは毎回ディスクに保存され、いつでも再読み出しが可能になっている。

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)

Fig. 4. Graph of regression line.

Fig. 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。

Fig. 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 Fig. 3, Fig. 4 の例に示すような波長固定での測光値読み取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)演算式を独自に考案する必要があることなどの理由により、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タな制約が多く、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の方が効率的であると考えられる。本システムでは Table 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、色彩計算などは、あらかじめプログラムが作成してある。

これらの波形処理プログラムは夫々別々のディスクに記憶しており、また演算そのものもメモリに一度記憶したスペクトルを用いて行う。ディスクの交換は通電状態にて行えるので、一度スペクトルを記憶してお

Fig. 5. Calculation of peak area.
(Sample: Yeast suspension)

けば、同一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。

ところで、分光光度計を用いる者にとって微分や四則

Fig. 6. Automatic peak detection. (Sample: NdCl₃ aq.)

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。

本システムではこれらの業務はユーザ関数として準備している。次にその実例を示す(BASIC 言語のプログラムで、プログラム途中の一部を示す。)

```
110 DTAW 1=USR 2(480.0)
```

```
120 DTAW 2=USR 2(370.0)
```

```
130 K=(DTAW 2-DTAW 1)*25.3
```

```
140 PRINT DTAW 1, DTAW 2, K
```

110, 120行目は480 nm と 370 nm の測光値を読み出す命令、130, 140行目は2波長間の測光値の差を25.3倍してその結果を CRT に表示する命令である。

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、枠を自動書き込みするといった一連の業務も SCAN%=USR 1(6) という一行のプログラムにまとめられている。

ユーザはこれらの単独のプログラムを継ぎあわせることによりユーザ専用のプログラムを作成することができる。

Fig. 7 はその一例のフローチャートである。このユーザ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プログラム上からすべて自動設定されるの

で、測定の度毎に条件設定が正しいかどうかチェックする必要もなくなる。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により、測定手順の間違いがなくなる。この例は一試料の測定手順の自動化を行ったものであるが、実際には多数試料を Fig. 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。

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うためには、もはや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 10 mm セルを並べ、これらのセルを CPU 制御信号により次々と入れかえる自動セル切換装置や、最大100本までの試験管を並べ、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。自動セル切換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) の指定などは夫々ユーザ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。次に自動セル切換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 3=USR 4(5.0)
```

Fig. 7. Example of user-program.

230 PRINT DTA 3

240 NEXT J

210 行目は J (1~5) 番目のセルを光路にセットする命令, 220 行目は光路にセットしたあと 5.0 秒間待ち時間をとつたあと測光値を読み出す命令, 230 行目は測光値を CRT に表示する命令である. 200 と 240 行は J を 1 から 5 まで繰り返す FOR~NEXT 命令である.

次に自動吸引サンブラを用いたプログラムの実例を示す.

300 AIR=USR 5(1.0)

310 SAMP=USR 6(2.0)

320 WAIT=USR 4(5.0)

330 DTAW 1=USR 2(480.0)

340 DTAW 2=USR 2(370.0)

350 K=(DTAW 2-DTAW 1)*25.3

360 L=L+1: PRINT L, DTAW 1, DTAW 2, K

370 IF L<50 THEN GOTO 300

300 行目は 1.0 秒間空気を吸引し, 前回測定した試料をフローセル内から洗い出す命令, 310 行目はサンブラのノズルを下げ, 試験管から試料を 2.0 秒間吸引する命令で, 実行後ノズルは自動的に上昇し次の試験管の場所に移動する. 320 行目は試料吸引後 5.0 秒間待ち時間をとる命令 (実際には 5 秒後の測光値が WAIT となるがこの例では単なる時間待ち命令として扱っている), 330 行から 360 行は前出の 110~140 行の例と同様で, 480 nm と 370 nm の測光値を読み出し, その吸光度差を 25.3 倍して CRT に試料番号 (L) とともに表示するプログラム, 370 行は 50 本の試験管の測定が終了するまでは 300~360 行のプログラムを繰り返す命令である.

以上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換装置や自動吸引サンブラを用いる場合にのみ使用できる. 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, これらの用途に対し全てを満足させる前処理システムを製作することは事実上困難である.

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 ACCESSORY 端子と, 外部の測定器 (例えば CPU 接続可能な天秤) から測光値を読み取るための RS-232 C 回線を準備している. ACCESSORY 端子には 5 個の状態読み取り (HIGH か LOW か) ラインと 5 個の制御信号出力 (HIGH か LOW か) 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 1 F ACC 2=0 GOTO 410

400 行目は ACCESSORY コネクタの 2 番端子を HIGH (+5 V) 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 HIGH (+5 V)

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により、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により信号をやりとりし、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。勿論、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クに登録しておくことができる。

4. ま と め

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全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い。

今回報告した分光光度計は共通プログラムの公開、外部システム用入力出力端子の制御プログラムの公開、およびそれらの基本プログラムのユーザー関数化を行ったもので、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有し、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全てで、ある意味ではメーカー間での機能向上合戦を行ったにすぎなかったとも言われている。

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ーション化に寄与することを期待している。

文 献

- 1) 前田芳夫: 化学技術誌 MOL 昭和54年6月号, 1 (1979).
- 2) 前田芳夫, 杉浦良夫, 高島洋平, 上武成吾, 西脇耕治: 第12回応用スペクトロメトリ-東京討論会要旨集, 1A01 (1976).
- 3) 網沢義夫: 技術者におくる 新しい分析技術講演要旨, 21 (1981).
- 4) 遠山恵夫: 技術者におくる 新しい分析技術講演要旨, 7 (1982).