Fig. 9 Working curve for Al

4. 結 言

以上の実験結果を要約すると

i) 鉄鋼中の微量元素 Ni, Cr, Mo, Cu, Ti, W, Co, Sn, Ti, B, Al, As, Zr, Nb, Ta の 15 元素の分析を行った。

ii) Ni, Cr, Mo, Cu, W, Co, Sn, B は case A (試料が陽極) のとき background が小さく良い結果を与える。標準偏差率は 2~6% である。

iii) As, Nb, Ta, Zr は case A の場合は検量線が

Fig. 10 Working curves for As, Zr, Nb and Ta in case B

かけないが, case B (試料が陰極) の場合には検量線がかけ分析可能である。標準偏差率は 3~8% である。

iv) Ti, Al, V は case A, case B どちらも検量線がかけられるが, Ti, V は case A のとき再現性が良いが background は case B の方が少い。Al は Case B の方が background も少く, 再現性も良い。

終りに本研究に対し終始御指導御鞭達を賜った佐野支所長, 島津科長, 並びに実験に協力して下さった支所の人々に対して謹んで感謝いたします。

赤血球懸濁液のオパール・ガラス法による分光学的研究

——とくに Soret 帯の平低化について——

中 馬 一 郎*

(昭和 34 年 9 月 26 日受理)

Spectrophotometrical Studies on Erythrocyte Suspensions by Opal Glass Method

——An Investigation on the Nature of Flattening of Soret Band——

Itiro TYUMA

(The Department of Physiology, Nara Medical College)

The absorption spectrum of hemoglobin, both in solution and in suspension of erythrocytes, is investigated by Shibata's Opal Glass transmission method.

* 奈良医科大学第二生理学教室 (橿原市四条町)
日本分光学会生物部会 (大阪大学医学部) にて発表

It is proved that the Soret band of erythrocyte suspension is flattened as compared with that of hemolysate although the position of the absorption maximum is identical with that of hemolysate and Beer's law is valid for the suspension. This flattening is due to the discrete distribution of hemoglobin molecules in the suspension (statistical effect). The degree of the flattening depends on the shape, size, and optical density of individual erythrocytes, and the relation observed among these properties can be explained, in first approximation, by Duysens' theory for suspensions of spherical particles.

1. ま え が き

一般に、ある物質の真正溶液の吸収スペクトルと、この物質を高濃度を含む懸濁液のそれとを比較、考察することは、吸収スペクトルの理論的研究としても、またその生物学的応用の面からも、きわめて興味ある問題である。

ある種の動物の赤血球はその中にヘモグロビンを高濃度(30%前後)に含み、その吸収スペクトルはほとんどヘモグロビンのみに帰因するとみなされるのみならず、簡単な溶血操作によつて完全に透明な溶液とすることができ、従来から上記目的のための好適な実験材料とされている。ところで、赤血球懸濁液の吸収スペクトルを通常の方法で測定すると、ヘモグロビンの最も強い吸収帯である Soret 帯(414 m μ)はまったく認められないか、または他の吸収帯にくらべて極端に低下している^{1,2)}。この現象は古く Adams ら¹⁾によつて、ヘモグロビンが赤血球内で stromatin と結合して存在することに帰因すると考えられたが、純粋ヘモグロビン溶液に stromatin を加えても吸収スペクトルはなんら変化しないこと³⁾、および赤血球沈積層についての測定²⁾や単一赤血球についての顕微分光測光法⁴⁾による測定では Soret 帯が明瞭に認められる事実などから、現在では主として光の散乱ないし反射に基づく純光学的現象であるとされている^{2,3)}。しかし、このような光学的影響を補正すれば、ヘモグロビンの Soret 帯が懸濁液においても溶液におけるとまったく同様の吸光度を与えるかという定量的問題についていまだ全然検討されていない。

一方、柴田^{5,6)}は最近オパール・グラス法と呼ばれる卓抜な吸収スペクトル測定法を案出し、これによれば懸

濁粒子による光の散乱の影響を完全に除外することができ、また反射の影響も半経験的方法によつて補正することが可能であることを明らかにした。さらに、Duysens⁷⁾は次に述べる統計学的考察から、溶質自体にはなんらの物理化学的变化がなくても、それが均一に分布している溶液の吸光度は、それと同量の溶質が離散的に粒子となつて懸濁液の吸光度よりも大であるという理論を提出している。

本報では、オパール・グラス法を用い、光散乱および反射の影響を補正しても、赤血球懸濁液の Soret 帯は同量の赤血球から作製した溶血液のそれにくらべて著明に平低化している事実、およびこの平低化が Duysens の理論によつて近似的に説明しうることについて述べる。

2. 基礎的理論

Duysens の理論を要約すると次のようである。はじめに、一様な大きさの等質正立方体粒子が表面積 1 cm² のセル中に懸濁している場合を考える。各粒子はその一つの面が必ず入射光に対して直角になるように配向するものとし、かつ粒子間に相互作用はないものとする。また、媒質と粒子の屈折率は等しく、入射光の粒子による散乱および反射はないものと仮定する。そこで、ある波長の光について、

d : 粒子の稜の長さ

h : セルの光路長 (cm) = セルの容積 (cm³)

$\alpha_{sol} = \ln I_0/I$, この懸濁液が溶液となつたときの吸光度*

$T_p = I/I_0$, 1 コの粒子の透過率

α_{sus} : 懸濁液の吸光度

と定める。

いま、粒子をセルの入射光に垂直な面から順に隙間なくつめこんだときできる粒子の層の数を p とすると、この状態における吸光度は溶液のそれに等しいはずであるから、

7) L.N.M. Duysens: *Biochem. Biophys. Acta* **19**, 1 (1956).

* 便宜上、本報では吸光度の定義にはすべて自然対数を用いた。

- 1) G.A. Adams, R.C. Bradley & A.B. Macallum: *Biochem. J.* **28**, 482 (1934).
- 2) 黒田嘉一郎, 三代幸彦, 稲葉正人: 医学と生物学 **36**, 217 (1955).
- 3) D. Keilin & E.F. Hartree: *Nature* **148**, 75 (1941).
- 4) E. M. Jope: "Haemoglobin" ed. F. J. W. Roughton & J. C. Kendrew, p. 205. Butterworth, London, 1949.
- 5) 柴田和雄: 生体物理化学シンポジウム **2**, 93 (1957).
- 6) K. Shibata: *Methods of Biochem. Analysis* **7**, 77 (1959).

$$\alpha_{sol} = p \ln \frac{1}{T_p} \quad (1)$$

次に、懸濁液の吸光度を計算するために、セルを体積 d^3 の正立方微小区画に分けて考える。このうちのある区画が粒子によつて占められる確率 q は全粒子の体積 pd とセルの容積 h の比に等しく、 $q=pd/h$ 。そこで、入射光（断面積 1 cm^2 ）は $1/d^3$ の光束からなると考え、これが $m(h/d)$ の区画を通過するとすれば、 m の区画のうち k が粒子を含む確率は $q^k(1-q)^{m-k}$ である。したがつて、粒子を k 含んでいる区画列を見出す確率 P_k は、

$$P_k = \left\{ \frac{m!}{k!(m-k)!} \right\} q^k (1-q)^{m-k}$$

となり、セルに入射する光の全エネルギーを I_0 とすると、 k の粒子を含む区画列に入射する光のエネルギーは $I_0 P_k$ 、この区画列から出てゆく光のエネルギーは $I_0 P_k T_p^k$ となる。ゆえに、セル全体についての透過率 T はこれをすべての k の値について加え、 I_0 で除したものに等しい。すなわち、

$$T = \sum_{k=0}^m \left\{ \frac{m!}{k!(m-k)!} \right\} (q T_p)^k (1-q)^{m-k}$$

右辺は

$$\{q T_p + (1-q)\}^m = \{1 - q(1 - T_p)\}^m$$

の 2 項展開であるから、

$$\alpha_{sus} = \ln \frac{1}{T} = -m \{1 - q(1 - T_p)\}$$

となり、 $q(1 - T_p) \ll 1$ ならば、第 1 近似として、

$$\alpha_{sus} = m q (1 - T_p) = p (1 - T_p) \quad (3)$$

を得る。この近似式が成立するためには、全粒子の体積が懸濁液の全量にくらべて小さければよい ($q \ll 1$)。また、 α_{sus} は p に比例するから、この条件が満足される限り、懸濁液についても Beer の法則が成立することになる。

懸濁液と溶液の吸光度の比 Q をとると、

$$Q = \frac{\alpha_{sus}}{\alpha_{sol}} = \frac{1 - T_p}{\ln(1/T_p)}$$

であるから、これは必ず 1 より小さいことが容易に証明される。 Q は粒子数には無関係で、 T_p のみに依存し、 T_p が 1 に近づけば 1 に、 T_p が 0 に近づけば 0 に近づく。すなわち、1 の粒子の吸光度がますます懸濁液の吸光度は溶液のそれより小となる。

一般に、体積 v_p の任意の形の粒子が N 存在する場合には、粒子の光束に垂直な投影面積を a_p とすると、

式 (3) に対応して、

$$\alpha_{sus} = N a_p (1 - T_p) \quad (4)$$

また、 l を粒子のある dimension を表わすものとするれば、

$$v_p = c_1 l^3, \quad a_p = c_2 l^2$$

とおくことができる。ただし、 c_1, c_2 は粒子の形および配向によつて決まる定数である。いま、粒子を同体積の正立方体に変形し、さきと同様にしてセルに隙間なくつめこむと、厚さ $N v_p \text{ cm}$ の層ができる。この層の単位の光路長あたりの吸光度を γ とすると、

$$\alpha_{sol} = N v_p \gamma = N c_1 l^3 \gamma \quad (6)$$

である。次に、粒子の光路長 l に相当する吸光度

$$\alpha_p = l \gamma \quad (7)$$

なる量を導入すると、 T_p は粒子の形、配向、および α_p の函数として表わすことができる。

式 (4)、(5)、(6)、および (7) から、任意の形の粒子に対しては

$$Q = \frac{c_2 (1 - T_p)}{c_1 \alpha_p} \quad (8)$$

を得る。とくに粒子が半径 r の球である場合には、 $l = 2r$ とおくと、 $c_1 = \pi/6$ 、 $c_2 = \pi/4$ であるから

$$Q = \frac{3(1 - T_p)}{2 \alpha_p} \quad (9)$$

となり、粒子の平均透過率 T_p は円柱座標を用いて球全体について積分すると

$$T_p = \frac{2 \{1 - (1 + \alpha_p) e^{-\alpha_p}\}}{\alpha_p^2} \quad (10)$$

で与えられる。

したがつて、粒子が球形である場合には、 Q は $\alpha_p = 2r\gamma$ のみの函数となり、粒子の単位光路長あたりの吸収度 γ (すなわち粒子内の吸光物質の濃度) が同一であれば、半径 r の大きい粒子ほど、また r が同一であれば γ の大きい粒子ほど Q が小となる。さらに、 γ は波長に依存するから、同一粒子でも Q は波長によつて異なり、吸光度の大きい波長領域ほど Q は小、すなわち懸濁液の吸光度は小となる。 γ は溶液についての吸光度の測定値および全粒子の体積より容易に算出できるから、別に粒子の半径を測定すれば、 Q と α_p についての上記理論式を実験的に検証することが可能である。

3. 実験材料と方法

実験材料

とくにことわらない限り、ヘパリンで凝固を防いだ各

種動物の血液を十分に空気と平衡せしめ、ヘモグロビンを酸素化したのち、生理的食塩水で 250~2,500 倍に希釈したものを赤血球懸濁液、同量の蒸留水で希釈し、1 滴の 20% NH_4OH を加えて完全に溶血させたものを溶血液として使用した。この試料は白血球、血小板、および血清をも含むわけであるが、その吸収スペクトルは 300 $\text{m}\mu$ より長波長側では分離、洗条操作によってこれらの混在物を除去した純赤血球懸濁液のそれとほとんど同一であつた。

なお、実験動物としては、ヒト、ダイコクネズミ、ガマ、アヒル、ウマ、ウシ、ヒツジ、およびヤギを用いた。

実験方法

吸収スペクトルの測定：島津 GB-50 および QB-50 型分光光度計により、溶血液については通常の方法で、懸濁液についてはオパール・グラス法によって吸光度を測定した。650~370 $\text{m}\mu$ の測定には藤本理化学器械製作所のオパール・グラスを、370 $\text{m}\mu$ より短波長側の測定には東洋ろ紙 No. 50 に流動パラフィンをしませたものを 2 枚重ね、石英板の間にはさんで使用した。定性的目的にはオパール・グラスのみを用い、多重反射を補正しない semi-integral attenuance⁶⁾、 pE_t^* 、を求めたが、溶血液の吸光度と定量的比較を行う場合には、柴田に従いセルとオパール・グラス間に透過率 0.15 の灰色フィルムをはさみ、試料とオパール・グラス間の多重反射の影響を除き、かつ試料の反射率と透過率との間に比例関係が成立するものと仮定し、計算によつて R-corrected attenuance⁶⁾、 $p_r E_t$ 、を求めた。

オパール・グラスを使用すると光量がいちじるしく減少するので、必然的にスリット幅が広がるが、光電子増倍管供給電圧を適当に上昇させ、280 $\text{m}\mu$ より長波長側の測定では全領域にわたつて 5 $\text{m}\mu$ 以下の波長幅で測定を行った。なお、赤血球懸濁液は作製直後は一般に著明な流動透過性⁸⁾を示すので、セルに入れてから 2 分後に測定を開始し、また赤血球沈下の影響を防ぐため、全測定は 20 分以内に終了するよう配慮した。

赤血球形態の測定：採取した血液について、ヘマトクリット値と赤血球数を算定し、これから赤血球 1 コあたりの平均体積を求め、赤血球が球形であると仮定して、その平均直径 ($2r$) を算出した。一方塗沫標本を作成し、対眼測微計によつて赤血球の円板としての直径 (ダ円板のときは長、短径) を測定し、これと平均体積から平均の厚み d を計算した。

4. 実験成績

4.1 赤血球懸濁液の吸収スペクトル

上記の方法で測定したダイコクネズミ赤血球懸濁液 (pE_t^*) およびその溶血液 (オキシヘモグロビン) の吸収スペクトルを Fig. 1 に示す。これから明らかなように、各吸収極大の位置については溶血液との間に差は認

Fig. 1 Absorption spectrum of rat erythrocyte suspension (1) and hemolysate (2). pE_t^* and E values correspond to whole blood diluted 250-fold by 1% NaCl and H_2O respectively.

められず、著明なのは Soret 帯付近における懸濁液の吸光度の低下である。この低下の程度は吸光度の絶対値にほぼ比例し、また検索したすべての動物の赤血球につい

Fig. 2 Ultraviolet fine structures of the absorption spectrum of erythrocyte suspension and hemolysate.

- (1) human fetal erythrocyte suspension.
- (2) human fetal erythrocyte hemolysate.
- (3) rat adult erythrocyte hemolysate.

(8) 黒田嘉一郎：生化学 26, 403 (1954).

て認められた。なお、吸光度の小さい波長領域では懸濁液の吸光度の方が溶血液のそれより大となっているが、これは反射光を補正しない pE_t^* 値を用いているためであつて、この補正を行つた p_rE_t 値を用いると両スペクトルの基線は一致する。

Fig. 2 は紫外領域の吸収曲線を示したものであつて、胎児ヘモグロビンに特有の $290\text{ m}\mu$ の小さい山 (tryptophan notch) が懸濁液についても明瞭に認められ、オパール・ガラスを用いても分解能はなんら変化しないことがわかる。ただし、 $265\sim 280\text{ m}\mu$ の phenylalanine に帰因する微細構造 (p -band) は、この領域ではスリット幅が極端に広がるので、懸濁液については判然としていない。なお、 $300\text{ m}\mu$ より短波長側では血清タンパク質の吸収が寄与するため、本実験では洗条赤血球懸濁液を用いてある。

4.2 Beer の法則および光散乱物質の影響

上述の Soret 帯の平低化の原因を追求するために第一に検討せねばならないのは、懸濁液についての Beer の法則の妥当性である。式 (3) および (4) から、光散乱を補正した場合には、濃度が希薄で粒子間に相互作用のない限り、懸濁液についても Beer の法則が成立することが予想されるが、一応この点を検討したのが Fig. 3 の成績である。図から明らかなように、血液 250 倍希釈以下の濃度では各吸収極大における吸光度と赤血球数との間には、溶血液におけると同様に Beer の法則が成立

ml. blood ($\times 250$) in 10 ml. H_2O or 1% NaCl

Fig. 3 Validity of Beer's law for rat erythrocyte suspension. Solid line: suspension. Broken line: hemolysate.

する。また、一定波長における懸濁液と溶血液の吸光度の比は赤血球数に依存せず、常に一定の値をとることがわかる。

次に、光散乱物質がヘモグロビンと単に共存することにより、後者の吸収スペクトルにどのような影響を与えるかを検索するため、Drabkin & Singer⁹⁾ に従つて、溶血液に牛乳を種々の濃度に加えて吸収スペクトルを測定した。Fig. 4 に示すように、牛乳は可視領域においては認むべき吸収極大を示さず、またその添加は単に基線を上昇させるのみで、ヘモグロビンの Soret 帯の形および基線よりの高さにはまったく変化を与えない。すなわち、牛乳の吸収スペクトルとヘモグロビンのそれとの間には明らかに加成性が成立する。この成績はまた、用いたオパール・ガラスの完全さを示すものといえる。

Fig. 4 Effect of the addition of cow's milk on the absorption spectrum of hemoglobin.

A: 250-fold diluted rat erythrocyte hemolysate B: 100-fold diluted cow's milk C: water

- (1) B # 1 ml + C # 9 ml (4) A # 1 ml + B # 3 ml + C # 6 ml
(2) A # 1 ml + C # 9 ml (5) A # 1 ml + B # 5 ml + C # 4 ml
(3) A # 1 ml + B # 1 ml + C # 8 ml

4.3 Duysens の理論の検証

上述の実験結果から、Soret 帯平低化の原因として光学的原因は一応除外することができる。そこで次に、これらの結果が Duysens の理論によつてどの程度説明されるかを検討した。

用いた赤血球は Table 1 に一括したように、いずれ

9) D.L. Drabkin & R.B. Singer: *J. Biol. Chem.* **129**, 739 (1939).

Table 1. Dimensions and optical constant of erythrocyte of various animals.

Animal	Diameter Thickness		Volume μ^3	Diameter		Optical density 0.4343 γ per μ
	(as disc) μ	μ		(as sphere) μ		
Man	7.05	2.24	87.2	5.51		0.263
Rat	6.04	1.72	52.5	4.64		0.254
Ox	4.88	1.77	33.0	3.90		0.240
Horse	5.82	1.50	39.8	4.24		0.267
Sheep	3.74	2.07	22.8	3.52		0.289
Goat	5.00	1.56	30.6	3.89		0.261
Toad	23.1	16.05	2.10	612.0	10.54	0.216
Duck	13.9	7.9	1.49	130.0	6.31	0.272

も円板ないしダ円形であるが、近似的に球とみなしてその直径 $2r$ を求め、Soret 帯付近の各波長についての γ および Q の測定値から、 $\alpha_p = 2r\gamma$ に対して Q をプロットしたのが Fig. 5~7 の各点である。ただし、便宜上縦軸の単位には $0.4343 \alpha_p$ (0.4343 は自然対数を常用対数に転換するための因数) を用いてある。また、図中の実線は式 (9) および (10) から計算した理論曲線である。

Fig. 5 Relation of α_p and Q for duck (○) and sheep (●) erythrocyte. Solid line: theoretical curve derived from equation (9) and (10).

各図において、 Q の値は α_p の最大の点で最小となり、その波長は Soret 帯の吸収極大すなわち $414 \text{ m}\mu$ に一致した。また、各点の配列は理論曲線とほぼ類似した傾きを示したが、球に近い赤血球（ヒツジ、ウシ）では

Fig. 6 Relation of α_p and Q for toad (○), rat (●), and ox (△) erythrocyte. Solid line: theoretical curve derived from equation (9) and (10).

Fig. 7 Relation of α_p and Q for human erythrocyte.

(○): non-treated erythrocytes in 1% NaCl.
(●): erythrocytes treated with 0.4 M NaCl containing 10% methyl alcohol.
(△): erythrocytes stored in ACD solution at 5°C for 8 weeks.

理論曲線に近く、球からへだたつたもの（表面積が厚さに比し大きいもの、ガマ、アヒル）では理論曲線からの偏差が大である。このことは、Fig. 7 のヒト赤血球につ

いての成績からより明確にされる。すなわち、ヒト赤血球は 10% メチルアルコールを含む 0.4 M NaCl で処理すること¹⁰⁾、および ACD 溶液（血液保存用のクエン酸、クエン酸ナトリウム、グルコース混液）中に長期間保存すること¹¹⁾によつて球形化することが報告されているが、これらの処理によつて α_p - Q 曲線は明瞭に理論曲線に近づく。また、0.4 M NaCl 処理の場合には浸透圧によつて赤血球体積が減少するため、相対的にヘモグロビン濃度が増大し (γ の増加)、この効果の方が体積減少による直径の減少よりも α_p の値に対しては大きく影響するから、結果として α_p は大となり、そのため Q の最小値は非処理血球に比べて著明に小さくなっている。

Fig. 8 は Soret 帯の吸収極大における α_p と Q との関係を全実験例について示したものである。gamma について相当の個体差がみられた以外は、各動物ともそれぞれ特有のほぼ一定範囲の値を示した。Table 1 から明らかなように、 γ の値は各種動物間に著明な相違を認めないから Q の値が動物の種類によつて異なるのは主として赤血球形態の差異に帰することができる。

Fig. 8 Flattening of Soret band in erythrocyte suspensions of various animals at 414 m μ .

(Δ): toad, (#): duck, ($\bullet$): human,
($\square$): horse, ($\circ$): rat, (+): sheep,
($\blacktriangle$): ox, ($\times$): goat.

10) 富野 徳: 四国医学雑誌 **14**, 243 (1959).

11) 吉川春寿他: 第11回酵素化学シンポジウム予稿集 p. 70 (1959).

5. 考 察

Fig. 1 および 2 の成績が示すように、オキシヘモグロビンの各吸収極大の位置は赤血球内においても溶液中とまったく同一であり、この事実およびまえおきで述べた Keilin & Hartree³⁾ の成績から Adams らの想像した赤血球内におけるヘモグロビンと stromatin との結合は、少なくとも吸収スペクトルの解釈に関する限り、否定できる。

懸濁液についても Beer の法則が成立する (Fig. 3) ことから、赤血球間の相互作用も一応考慮の外における。式 (2) からわかるように、一般には懸濁液については Beer の法則は成立しない。しかし、式 (2) を級数展開し、近似式 (3) による吸光度 α_{sus} と真の吸光度 α_{sus} との偏差を求めると、 $q \leq 0.1$ ならば

$$\frac{\alpha'_{sus} - \alpha_{sus}}{\alpha_{sus}} < 0.6 q (1 - T_p) < 0.6 q$$

となる。 q は懸濁液の全量に対する全粒子の体積の比であるから、本実験で用いた濃度範囲（全血の 250~2,500 倍希釈）ではヘマトクリット値を 50 とすると、 $q=0.002 \sim 0.0002$ となり、真の吸光度との誤差は 0.12% 以下となる。したがって、このような希薄な懸濁液については Beer の法則が実験誤差の範囲内で成立する。この結果はオパール・グラス法の定量的応用に対して一つの根拠を与えるものといえよう。なお、反射光の補正は柴田の半経験的方法によつたが、黒田ら¹²⁾の測定によれば赤血球の反射率は 580 m μ より短波長側では非常に小さいし、また pE_t^* スペクトルの基線があまり高くない事実からも、赤血球懸濁液の吸収スペクトルに対する反射光の寄与はあまり大きくないと考えられ、とくに Soret 帯付近の吸光度の大きい領域ではほとんど無視しても差支えないであろう。

上述の論議および Fig. 4 の成績から、オパール・グラス法を用いた場合には、Soret 帯低下の原因として光学的なものは除外できる。また、光散乱の影響を他の方法で除外し、かつ Soret 帯の平低下を認めている報文も二、三ある^{13,14,15)}。たとえば、Barer¹⁵⁾ は赤血球と同一の屈折率を持つ高濃度のウシ血清アルブミンを媒質に用

12) 黒田嘉一郎, 三代孝彦, 谷 彰: 医学と生物学 **50**, 24 (1959).

13) E. J. Robinson: *Amer. J. Physiol.* **133**, 428 (1941).

14) D.L. Rubinstein & H.M. Ravinovich: *Nature* **158**, 952 (1946).

15) R. Barer: *Science* **121**, 720 (1955).

いて光散乱を減少させても、赤血球懸濁液の Soret 帯は溶血液のそれよりも約半分平低化することを認めている。かれはこの原因を強い吸収帯付近における屈折率の異常分散に帰しているが、異常分散に基づくものであれば吸収極大の位置が当然移動するはずであるから、この見解は支持し難い。

Fig. 5~7 の成績は Soret 帯の平低化が Duysens の統計的效果に帰因するものであることを示すもので、用いた赤血球はいずれも円板ないしダ円状であるため (Table 1), 球についての理論曲線と完全には一致しないが、実測値と理論値との偏差は赤血球形態の球形からの偏差とほぼ比例すること、および赤血球を球形化处理すると $\alpha_p - Q$ 曲線が理論曲線に近づくことからこの理論の妥当性は明白である。また、吸光係数 (r) の小さい他の吸収帯では平低化が著明でないこと、およびさきに述べた懸濁液について式 (3) がよく適合する事実も上の見解を支持するものである。

一方、赤外領域の吸収スペクトルに用いられる KBr 錠剤法に関連して Duysens と類似の理論が提出されている。すなわち、Duyckaerts¹⁶⁾ は錠剤中の試料の粒度がある程度より大きくなると吸収帯が著明に平低化する事実に着目し、この平低化の程度と試料の粒度および吸光係数との間に Duysens と同様の関係式を理論的に導き、Bonhomme¹⁷⁾ は方解石その他二、三の試料について、この理論式がよく適合することを実験的に証明した。また、Stewart¹⁸⁾ も Duyckaerts と同様の理論式を得ている。

上述の論議から明らかなように、一般に光吸収物質が離散的状态にある試料の吸収スペクトルに対しては、平低化効果が必ず随伴するものであるから、その定量的解釈にあたっては試料粒子の形態、分布状態、および吸光

係数を考慮せねばならない。球形粒子については、 Q と r が実測できれば粒子の直径 $2r$ を理論的に算定しうるから、純光学的測定値のみから粒子の形態を知ることが可能となる。また、 r の実測が困難な試料については、 Q と $2r$ の測定値からそれを計算し、粒子内の光吸収物質の濃度を計算することができるわけである。このように Duysens の理論は応用面においても非常に価値あるものと考えられる。ただし、現在までのところ、完全な形で理論式が提出されているのは計算の容易な正立方体粒子と球形粒子についてのみであつて、赤血球のようなより複雑な形態の粒子に対する理論は将来にまたねばならない*。

6. む す び

各種動物の赤血球懸濁液の吸収スペクトルをオパール・グラス法で測定し、溶血液のそれと比較、考察して次の結論を得た。

1. オキシヘモグロビンの各吸収極大の位置は赤血球内においても不変である。
2. 希薄な赤血球懸濁液に対しては Beer の法則が成立する。
3. 赤血球懸濁液においてはヘモグロビンの Soret 帯が著明に平低化しているが、この現象は懸濁液中ではヘモグロビン分子が赤血球中にあるため離散的に分布することに帰因するものである (統計学的効果)。
4. この Soret 帯の低下度は赤血球の形態とその単位長さあたりの吸光度 (ヘモグロビン濃度と測定波長) に依存し、それらの量的関係は Duysens の理論によつて近似的に説明できる。

終りに、オパール・グラス法について種々教示を受けた東京工業大学柴田和雄教授、統計学的問題についてご教示いただいた奈良医科大学統計学教室山本純恭教授および田中正夫助手に厚く御礼申し上げる。

* この問題については目下、山本純恭、田中正夫両氏とともに研究中であり近く発表の予定である。

16) G. Duyckaerts: *Spectrochim. Acta.* **7**, 25 (1955).

17) J. Bonhomme: *Ibid.* **7**, 32 (1955).

18) J.E. Stewart: *J. Res. Nat. Bureau Stand.* **54**, 41 (1955).