総合論文*

反応熱によるプローブ光の偏向を利用する
新規化学計測法

呉 行 正**

A novel chemical measurement method based on
reaction heat-induced optical beam deflection

Xing-Zheng Wu**

**Department of Industrial Chemistry, Faculty of Technology, Tokyo Metropolitan University,
1-1, Minami Ohsawa, Hachioji-shi, Tokyo 192-03

(Received 13 September 1995)

The principle, instrumentation, and applications of a novel chemical measurement method based on reaction heat-induced optical beam deflection (OBD) have been discussed in detail. A theoretical equation that describes reaction heat-induced OBD for a very fast reaction (impulse reaction) is first derived by considering the thermal diffusion process. For a slow chemical reaction, its reaction heat-induced OBD signal is treated with the concept of convolution. The neutralization reaction is used as a model fast reaction for verification of the derived theoretical equation and investigation of the basic experimental conditions. It has been demonstrated that the magnitude of reaction heat-induced OBD is proportional to the amount of reactant, and the reaction rate can be deduced by analyzing the time decay curve of the reaction heat-induced OBD signal. Applications of the method to redox reaction and enzyme reaction systems have also been investigated. Furthermore, real time one dimensional imaging detection for reaction heat-induced OBD is also demonstrated. Further development and applications of the method are also discussed.

Keywords : reaction heat-induced optical beam deflection; neutralization reaction; redox reaction; enzyme reaction; reaction rate; one dimensional imaging.

1 序 論

生化学, 反応化学等の分野で, 化学反応過程にできるだけ外から刺激を与えず, その場でありのままに化学種を測定する *in-situ* 計測法への要望がますます強くなってきた。現在使用されている化学反応過程の計測法には

大きく分けると, 反応物あるいは生成物の性質の変化を測定する手法と, 反応過程で放出された反応エネルギーを測定する手法とがある。前者には吸光分光法などの各種分光法¹⁾²⁾が, 後者には熱量測定法(カロリメトリ)³⁾⁴⁾, 化学発光分析法⁵⁾⁶⁾, アコースティックエミッション分析法⁷⁾⁸⁾が代表的な手法としてある。これらの方法の中で熱の測定に基づく分析法はすべての反応系に適用できる。従来からは用いられている熱量測定分析法では, 試料とサーミスターを温度制御された密閉容器内

* 関東支部創立 40 周年記念

** 東京都立大学工学部工業化学科: 192-03 東京都八王子市南大沢 1-1

に置き測定を行う⁷⁾⁸⁾。最近、酵素を熱電対の表面に直接固定し、センサー形式で酵素反応熱を直接測定する研究も行われている⁹⁾。この測定方式は測定環境の温度制御を必要としないので、従来の熱量測定法より優れたものとして注目されている。

一方、光熱変換分光法でプローブ光の偏向を利用するビーム偏向測定法は、光を吸収した分子の無放射緩和過程で放出される微弱な熱でも測定できる高感度な熱測定法であり、光熱変換分光法の分野ではよく知られている^{10)~16)}。又、ビーム偏向測定法は電極表面、膜/溶液界面での物質の拡散過程で生じた濃度こう配^{17)~22)}及び密度こう配²³⁾の高感度測定にも使用されている。このビーム偏向測定法は非接触、非侵襲、*in-situ*、遠隔測定が可能などの特長を持つ。

化学反応過程ではエンタルピー変化あるいは反応熱が発生する。著者らはこの反応熱に着目した。すなわち、化学反応熱により、反応媒質及びその周辺に温度こう配を生じ、この温度こう配が屈折率こう配を誘起する。更に誘起された屈折率こう配が反応場周辺を通過するプローブ光を偏向させる。そこで、プローブ光の偏向を測定、解析することにより、反応物あるいは生成物の定量分析を行え、更に反応速度などの動的挙動に関する知見が得られると考えられる。著者らはこの発想に基づいて、化学反応熱によるビーム偏向効果を利用する新規 *in-situ* 計測法を提案し、更にその応用研究も行ってきた^{24)~30)}。この反応熱によるビーム偏向法は、光熱変換分光法でのビーム偏向法及び濃度こう配によるビーム偏向法とは原理的に異なるもので、又測定対象、応用範囲も異なり、従来の手法にない独自の特徴を持つ。ここでは、本手法の理論、実験方法及び応用について述べる。

2 理 論

Fig. 1, A に示すように、水及び水と混合しない溶媒をセルに設置し（溶媒の密度が水より小さい場合、水が下で溶媒が上である）、化学反応を水相で発生させ、プローブ光が界面付近の溶媒相を通過する系を考える。座標軸については、Fig. 1, A に示したように水相と溶媒相界面の法線を z 軸の方向とし、又水/溶媒界面を原点とする。

まず、水相反応の反応熱により誘起した溶媒相での温度こう配を検討する。この場合、化学反応熱が唯一の熱源と仮定する。

2・1 瞬間的な反応の場合

水相では、ある反応 $A+B \rightarrow C$ の反応速度が熱拡散

Fig. 1 Illustration of the principle of reaction heat-induced beam deflection (A), and temperature distribution at $t=0$ (B) and $t=t$ (C)

に比較してはるかに速く、反応熱が瞬間的に発生すると仮定する。つまり熱源としてはデルタ関数として取り扱うことができるとする。この熱源により、水相では温度が初期温度 T_0 から $T_0 + \Delta T$ に上昇する (Fig. 1, B)。

$$\Delta T = (\Delta H M) / (C_1 M_1) \quad (1)$$

式(1)で ΔH , M , C_1 及び M_1 はそれぞれモル化学反応熱 (J/mol), 反応物のモル量 (mol), 水相の重量比熱 {J/(g °C)}, 及び水相の重量 (g) である。

このデルタ関数として取り扱える熱源から発生した熱の一部分は溶媒相に伝わる。その結果、Fig. 1, C に示すように水/溶媒界面付近で溶媒相の温度が上昇する。水/溶媒界面の熱拡散過程がそれぞれ次のような熱拡散方程式に従う（ここでは、 ΔT が小さく、熱伝導過程が熱拡散のみと仮定する）。

$$k_1 \frac{\partial^2}{\partial z^2} T_{1\delta}(z, t) = \frac{\partial}{\partial t} T_{1\delta}(z, t) \quad (2)$$

$$k_2 \frac{\partial^2}{\partial z^2} T_{2\delta}(z, t) = \frac{\partial}{\partial t} T_{2\delta}(z, t)$$

式(2)では、 $T_{1\delta}(z, t)$ と $T_{2\delta}(z, t)$ はそれぞれ水相と有機相の座標 z 、時刻 t での温度で、 k_1 、 k_2 はそれぞれ水と溶媒の熱拡散係数 (単位: m^2/s) である。熱拡散係数は次のような式で熱伝導率 K [$\text{J}/(\text{m}^\circ\text{C s})$]、重量比熱 C [$\text{J}/(\text{g}^\circ\text{C})$]、及び密度 ρ (g/m^3) から計算できる³¹⁾。

$$k_i = K_i C_i^{-1} \rho_i^{-1} \quad (i=1, 2) \quad (3)$$

式(2)で示された熱拡散方程式は次の式(4)で示す境界条件及び式(5)で示す初期条件のもので解ける。

$$\left. \begin{aligned} T_{1\delta}(z, t) &= T_{2\delta}(z, t) \\ K_1 \frac{\partial}{\partial z} T_{1\delta}(z, t) &= K_2 \frac{\partial}{\partial z} T_{2\delta}(z, t) \end{aligned} \right\} z=0 \quad (4)$$

$$\left. \begin{aligned} T_{1\delta}(z, t) &= T_0 + \Delta T \\ T_{2\delta}(z, t) &= T_0 \end{aligned} \right\} t=0 \quad (5)$$

その結果、溶媒相での温度 $T_{2\delta}(z, t)$ は次のようである。

$$T_{2\delta}(z, t) = T_0 + \frac{K_1 k_1^{1/2}}{K_1 k_1^{1/2} + K_2 k_2^{1/2}} \Delta T \left[1 - \text{erf} \left(\frac{z^2}{4k_2 t} \right) \right] \quad (6)$$

又、式(6)から溶媒相での温度こう配 $\partial T_{2\delta}/\partial z$ も次のように求められる。

$$\frac{\partial T_{2\delta}}{\partial z} = \frac{K_1 k_1^{1/2}}{K_1 k_1^{1/2} + K_2 k_2^{1/2}} \frac{\Delta T}{2\sqrt{\pi k_2 t}} \exp \left(-\frac{z^2}{4k_2 t} \right) \quad (7)$$

一方、プローブビームの大きさがある温度こう配 dT/dz の存在範囲よりはるかに小さいとき、その dT/dz により誘起されるプローブ光の偏向角度 $\Delta\theta$ (Fig. 1, A) は次のようである¹⁰⁾¹¹⁾。

$$\Delta\theta = \frac{L}{n} \frac{dn}{dT} \frac{dT}{dz} \quad (8)$$

式(8)中の L 、 n 、 dn/dT はそれぞれプローブ光の温度こう配での光路長、溶媒の屈折率、屈折率の温度依存係数である。式(7)を式(8)に代入すると、式(9)が得られる。

$$\Delta\theta = A \Delta H \frac{M}{M_1} \frac{\exp(-z^2/4k_2 t)}{2\sqrt{k_2 t}} \quad (9)$$

式(9)中の A は定数であり、その値は溶媒相の光学的、熱的な性質を表すパラメーターで、次の式で計算できる。

$$A = \frac{0.5(L/n) (dn/dT) (1/C_1)}{1 + (K_2/K_1)^{1/2} (C_1/C_2)^{1/2} (\rho_2/\rho_1)^{1/2}} \quad (10)$$

式(9)は瞬間的に発生する化学反応の反応熱によるプローブ光の偏向信号を表している。

2・2 遅い反応の場合

上述したように、反応速度が非常に速くて、つまり熱源としてはデルタ関数で取り扱えるような反応系の偏向信号 $\Delta\theta$ は式(9)で表される。この $\Delta\theta$ は数学的にはインパルス応答あるいは装置応答関数とも呼ぶ^{32)~35)}。

反応速度が遅い場合、つまり熱源としてはデルタ関数で取り扱えない反応系の偏向信号は、コンボリューションの概念^{32)~35)}で表すことができる。数学的には、デルタ関数で取り扱えない熱源から生じた偏向信号は、その熱の発生速度 (反応速度に等しい) とインパルス応答とのコンボリューションになる²⁸⁾。つまり次のような式で表される。

$$\begin{aligned} \Delta\Theta &= B \int_0^t R(\tau) \Delta\theta(t-\tau) d\tau \\ &= \int_0^t R'(\tau) \Delta\theta(t-\tau) d\tau \end{aligned} \quad (11)$$

式(11)中の $\Delta\Theta$ は熱源としてデルタ関数で扱えない遅い反応の偏向信号で、 $R(t)$ は熱源発生速度、つまり反応速度である。又、 B は遅い反応及び速い反応の反応熱と関連する係数で、 $R'(t)$ は反応速度に比例するもので、次のような式で表される。

$$R'(t) = BR(t) \quad (12)$$

3 実 験

3・1 測定系

まず、測定系について説明する。測定系は Fig. 2, A に示すようである。基本的にはプローブ光の光源、反応セル及び偏向測定系から構成される。プローブ光の光源は He-Ne レーザー (632.8 nm) である。反応セルについては、バッチ法では市販の吸光度分析用のセル (Fig. 2, A) 及びガラス管 (4 mm, o.d., 2.3 mm, i.d.) の一端を薄い金ばく (厚さ 10 μm) で封じたセルを用いた。フローインジェクション分析用のフローセルについては、薄い金ばくで一端を封じたガラス管に送液用テフロンチューブを差し入れたものを用いた。偏向測定系に

Fig. 2 Illustration of the experimental setup for reaction heat-induced beam deflection

A): batch experiment; B): flow injection experiment

Fig. 3 Illustration of the experimental setup for one-dimensional reaction heat-induced beam deflection imaging

については、ナイフエッジとフォトダイオードから構成した。プローブ光の半分をナイフエッジによりブロックし、残った半分の光量をフォトダイオードでモニターした。

化学反応熱による偏向信号の一次元測定系: Fig. 3 に示すように、まずプローブ光を顕微鏡用レンズ及び焦点距離が 10 cm の光学レンズにより広げた³⁵⁾。次に広げたプローブ光の中心部分が幅 0.5 mm のスリットを通し、ガラス管から構成したセルの下の四塩化炭素相にあてた。反応セルの後部のプローブ光と平行なナイフエッジにより、プローブ光の半分をブロックした。ブロックされていないプローブ光の強度を一次元イメージセンサーによりモニターした。

3・2 実験方法

バッチ法では、あらかじめセルの下部分に四塩化炭素相を入れ、その上に一方の反応物溶液を一定量入れておき、次にマイクロシリンジでもう一方の反応物溶液を一定量注入し、化学反応させた。

フロー法では、フローセルにペリスタポンプで片方の反応物溶液を導入し、もう一方の反応物をインジェクターで流路に 20 μ l 注入した。

金ばく上でのカタラーゼの固定化: カタラーゼはグルタルアルデヒドにより血清アルブミンと架橋した⁹⁾³⁶⁾。10 mg カタラーゼ及び 10 mg 血清アルブミンを蒸留水に溶かし、次にその溶液に 10 μ l 30% グルタルアルデヒド水溶液を加えた。得られた溶液を 80 μ l でガラス管セルに加え、窒素雰囲気下で静置する。1 時間後金ばくの上に厚さ約 20 μ m の酵素膜が形成された。

4 結果と考察

4・1 反応熱によるビーム偏向信号の測定及び基礎的な検討

反応熱により生じた偏向信号は反応媒質あるいはその周辺の温度こう配 dT/dz に比例するので、原理的には、プローブ光を反応場内に直接通過させれば最大偏向信号を得るはずである。しかし、この場合、反応場で反応物の混合により生じた不安定、しかも複雑な密度変化により、不安定な屈折率変化を生じるため、反応熱による偏向信号は正確に測定できない。そこで、プローブ光を Fig. 2, A に示すように CCl_4 相に通し、その上に設置した水相中で反応を起こさせる測定方式を考案した²⁴⁾。

Fig. 4 に CCl_4 相の上に設置した 2 M HCl 溶液に 2 M HCl, H_2O , 0.5 M NaOH 溶液をそれぞれ 50 μ l 滴下したとき得た信号を示した。HCl 又は H_2O を滴下したとき、プローブ光の偏向信号は生じなかったが、NaOH 溶液を滴下したとき、フォトダイオードで検出したプローブ光の光量ははじめに減少し、ある時間後滴下する前のレベルに戻る。中和反応は発熱反応であり、その反応熱が CCl_4 相に伝わり、Fig. 1, A に示したような温度こう配、屈折率こう配を誘起する。この屈折率こう配により、プローブ光が CCl_4 側に曲がる。従って、ナイフエッジによりブロックされたプローブ光の光量が増え、フォトダイオードで検出される光量が小さくなる。又、時間がたつと温度こう配がなくなり、プローブ光が元の通過方向に戻り、偏向信号がなくなる。

中和反応が速い反応 (拡散律速) なので、ここでは瞬時的な反応と近似する。一方、理論部分で述べたように、瞬時的な反応の反応熱によるプローブ光の偏向信号

Fig. 4 Typical reaction heat-induced beam deflection signal for neutralization reaction

Fig. 5 Comparison of experimental beam deflection signal with the theoretical one
Solid line and dashed line represent experimental and calculated deflection signal, respectively.

が式(9)で記述できる。Fig. 5 では、式(9)で計算したプローブ光の偏向信号及び実測データを示す。全体として、偏向信号の実測データが計算値と大体一致している。計算値より実験値のほうが速く減衰したのは、理論モデルで一次元の熱拡散しか考えてなく、又水相が無限に長いと仮定したからである。実際の熱拡散が三次元拡散で、又水相から空気相へ熱も拡散するので、一次元の拡散モデルより速く熱が散逸する。

一方、実際の分析、特に定量分析では、信号のピーク高さがよく用いられる。反応熱による偏向信号がいつ最大になるかについては、式(9)を時間 t で偏微分して 0

Fig. 6 Dependence of the reaction heat-induced beam deflection signal on the distance between the probe beam and $\text{H}_2\text{O}/\text{CCl}_4$ interface
Solid line and circles are calculated and experimental results, respectively.

と置くこと ($\partial\Delta\theta/\partial t=0$) により得られる。その結果、偏向信号が最大になる時間 $t_{\max}$ は次のようになる。

$$t_{\max}=z^2/2k_2 \quad (13)$$

式(13)中の z はプローブ光の通過位置で、プローブ光と水/ CCl_4 界面との距離を表す。式(13)を式(9)に代入すれば、最大偏向信号 $\Delta\theta_{\max}$ 、つまり偏向信号のピーク高さは次のようになる。

$$\Delta\theta_{\max}=\sqrt{2} \epsilon^{1/2} A \Delta H M (1/z) \quad (14)$$

式(14)から分かるように、偏向信号のピーク高さは溶媒相の光学的、熱的性質を表すパラメーター A 、化学反応熱 ΔH 及び反応物の量 M と比例し、一方プローブ光の水/溶媒界面からの距離 z と反比例することが明らかになった。

Fig. 6 には反応熱による偏向信号のピーク高さとプローブ光の界面からの距離との関係を示した。プローブ光が界面に近いほど偏向信号が大きい。一方、滴下による界面のゆれにより生じたノイズも界面に近いほど大きい。分光光度計用のセル ($1\text{ cm} \times 1\text{ cm} \times 5\text{ cm}$) を用いる場合、界面から 1 mm 前後で最も大きな S/N を得た。

又、溶媒相を選択することにより、溶媒相の光学的、熱的性質を表すパラメーター A の値が変わる。式(10)から分かるように、屈折率の温度係数 dn/dT が大きい

Fig. 7 Calibration curve of NaOH by reaction heat-induced beam deflection

ほど、熱伝導率 K_2 及び熱容量 C_2 が小さいほど、 A の値が大きくなり、偏向信号も大きくなる。四塩化炭素は有機溶媒の中で高い dn/dT を持ち、又熱伝導率 K_2 及び熱容量 C_2 も小さく、この実験では好都合であるためこれを選んだ。

偏向信号のピーク高さと反応した NaOH の量との関係を Fig. 7 に示す。偏向信号は反応物の量と直線関係にあることが分かる。この定量関係は式 (14) から分かる。NaOH の定量下限は $5 \mu\text{mol}$ ($S/N=3$) で、定量範囲は $5 \sim 50 \mu\text{mol}$ である。計算から求めた反応熱の範囲は $67 \sim 670 \text{ mcal}$ に相当する。NaOH の量が $50 \mu\text{mol}$ を超えると偏向信号は大きくなりすぎ、プローブ光はすべてナイフエッジにより遮断されてしまう。より良好な位置検出器を使用すれば定量範囲は広げられる。

4.2 FIA の新規検出器としての応用

次に、この手法をフローインジェクション分析 (FIA) の新規検出器として応用した²⁵⁾。著者らはまずマイクロスライドガラスで水/四塩化炭素界面を有するフローセルを設計、作製し、そのフローセルにあらかじめ CCl_4 を入れておき、その上に 2 M HCl 溶液をペリスタポンプで流し、NaOH 溶液を試料として $100 \mu\text{l}$ 注入した。結果として、試作したフローセルは広い流量範囲で安定なベースラインを与え、良好な S/N が得られた。検出下限は 0.05 mol/l ($100 \mu\text{l}$ 注入) で、定量範囲は $0.05 \sim 0.5 \text{ mol/l}$ であった。FIA に適用する場合、フ

Fig. 8 Relationship between beam deflection signal and the concentration of H_2O_2 injected into flow cell

ローセル内の水/ CCl_4 界面をいかに安定にするかが本測定法の検出感度を左右する。フローセルについては、後述するような水相と CCl_4 相とを金ばくで仕切るタイプ (Fig. 2, B) も考えられる。

4.3 酵素反応系への応用

又、本法を酵素反応系へも応用した。カタラーゼによる過酸化水素の分解反応をモデル酵素反応として用いた²⁶⁾。まず、酵素反応場を CCl_4 相上に置き、反応を起こさせた。この場合、反応熱による偏向信号、及び酵素反応の生成物である O_2 の CCl_4 相への溶解、拡散により生じた濃度こう配による偏向信号が同時に検出される²⁶⁾。反応熱による偏向信号に着目するため、Fig. 2, B に示したように、熱容量が小さい薄い金ばく (厚さ $10 \mu\text{m}$) で反応セルの底を封じた。このセルの場合、水/四塩化炭素界面の揺れにより生じたノイズが小さくなる。

偏向信号と過酸化水素の濃度及び酵素活性との定量関係についてパッチ実験で検討したところ、偏向信号は H_2O_2 の濃度及び酵素活性と直線関係にある。 H_2O_2 の定量範囲は $4 \times 10^{-3} \sim 4 \times 10^{-2} \text{ M}$ で、検出下限は $4 \times 10^{-3} \text{ M}$ である。酵素活性の定量範囲は $50 \sim 500 \text{ unit/ml}$ である²⁶⁾。

更に、金ばく上に酵素カタラーゼをタンパク質血清アルブミンと架橋法で固定した²⁷⁾。リン酸緩衝溶液を酵素固定化したセルに連続的に流し、そこへ H_2O_2 溶液を $40 \mu\text{l}$ 注入した (Fig. 2, B)。流量が 1.6 ml/min のとき、偏向信号は H_2O_2 の濃度と $2.5 \times 10^{-2} \text{ M} \sim 5 \times 10^{-1} \text{ M}$ の範囲内で直線関係を示した (Fig. 8)。検出下限は $2.5 \times 10^{-2} \text{ M}$ であった。この固定化酵素と結合した H_2O_2 の FIA 偏向測定法の安定性については、13 時間内 100 回の連続測定を行ったところ、反応熱による偏

Fig. 9 Deflection signals for the neutralization reaction (A) and the oxidation-reduction reactions in the presence (B) and absence of Mn^{2+} (C) in the reaction medium beforehand

向信号は全く変化しなかった²⁷⁾。更に、固定化酵素の活性は2週間内安定であることも確認した。これらのことは本手法を固定化酵素と組み合わせ、新規バイオセンサーとして利用できることを示唆している。

4・4 反応速度の解析への応用

次に本法による反応速度の解析について検討した²⁸⁾²⁹⁾。この場合、 $\text{MnO}_4^- \sim \text{C}_2\text{O}_4^{2-}$ 酸化還元反応をモデル反応として用いた。

Fig. 9, A, B, C はそれぞれ中和反応系、酸化還元系 (あらかじめ Mn^{2+} が存在する場合と存在しない場合) の偏向信号の時間変化を示す。速い中和反応の場合、反応開始直後に偏向信号はすぐ最大になり、一方酸化還元反応の場合、ある時間を経た後偏向信号が最大になる。

理論で述べたように、遅い反応の偏向信号が式(11)のように表され、熱源としてデルタ関数で扱えるような瞬間的な反応の偏向信号と反応速度とのコンボリューション

Fig. 10 Reaction rate decay curve $R'(t)$ obtained by the deconvolutions of the deflection signals and transmittances of a 543 nm laser beam

A) in the presence of Mn^{2+} beforehand, B) in the absence of Mn^{2+} beforehand

ョンになる。従って、遅い反応の反応速度がその反応系の偏向信号と瞬間的な反応系の偏向信号からデコンボリューションすることにより得られる。ここでは粗い近似として、中和反応を瞬間的な反応と仮定し、その偏向信号 $\Delta\theta$ 及び酸化還元反応の偏向信号 $\Delta\Theta$ からデコンボリューションした。デコンボリューションにより得た反応速度に比例する $R'(t)$ を Fig. 10 に示す。Fig. 10 から、この系で Mn^{2+} があらかじめ存在する場合と存在しない場合、酸化還元反応がそれぞれ 340 秒と 650 秒前後で終了したことが明らかである。

一方、反応速度が反応物の濃度の減少速度あるいは生成物の濃度増加速度 dC/dt で表される³⁷⁾。従って、この系の反応速度が MnO_4^- の濃度測定から解析できる。そこで、 MnO_4^- (吸収極大波長 535 nm) が吸収を示す 543 nm の He-Ne レーザービームを用い、その透過率 T (%) をモニターした。本来、透過率データ T (%) から吸光度に変換し、その吸光度が MnO_4^- の濃度に比例するので、時間 t に対して微分すれば、反応速度になるはずである。しかし、本反応系での MnO_4^- の濃度が高すぎて、反応の初期段階で 543 nm の He-Ne レーザー光がすべて吸収され (透過率が 0, 吸光度が無限

大), ベールの法則の適用範囲を超える. このため, ここでは透過率データを吸光度に変化せず, 直接偏向信号の解析結果と比較し, 討論を行う. 透過率測定結果も Fig. 10 に示す. Fig. 10, A から分かるように, Mn^{2+} があらかじめ存在するとき, 透過率は 340 秒以後ほとんど変化しない. これはすべての MnO_4^- が既に反応したことを示し, つまり反応がすでに終わったことを意味している. これは偏向信号の解析結果と一致している. 反応の初期段階での反応速度については, 既に述べたように透過率データから解析できない. 又, Fig. 10, B において透過率が途中から 0 になったのは, 酸化還元反応の生成物である CO_2 の気泡がレーザビームに入って (これは目視で確認した), 光を散乱させたからである. 従って, 吸光法あるいは透過法はこのような気泡や, 沈殿生成反応系の計測には利用できない. 一方, 本法ではこのような問題がない.

4・5 化学反応の一次元 *in-situ* 計測法の開発

更に, 本法により化学反応の一次元計測についても検討した³⁰⁾. Fig. 11 には内径 2.3 mm のガラス管内でモデル反応としての中和反応を発生したときの, 反応熱による偏向信号の一次元イメージである. 反応開始直後, イメージセンサーの 375 番目のチャンネル前後から偏向信号が測定され始める. 375 番目のチャンネル前後の位置が反応セルの中心に対応する. 又, 反応開始から約 3, 4 秒後最大偏向信号が測定される. 偏向信号がイメージ検出器の 375 $\pm$ 50 番前後の範囲内で検出され, これは反応セル中心から ± 1.25 mm 内に対応する. 一方, 反応セルとして使用されたガラス管の内径は 2.3 mm (半径 1.15 mm) である. 偏向信号のイメージ範囲と反応セルの大きさとの差は主に熱拡散によるものである. 又, この熱拡散が本法の空間分解能を左右すると思われる. 現段階では, 正確な空間分解能がまだ不明であるが, この差を考慮すると約 0.1 mm 程度であると考えられる. 又, 偏向信号の大きさが反応物の量と比例するので, ガラス管の直径方向が反応物の量が最も多いことも Fig. 11 に示されている. 従って, 全体として, ガラス管内での中和反応はよくイメージされたと考える. この手法が反応活性の分布測定に利用できるものと期待できる.

4・6 本手法の特徴及びこれからの課題と展望

本手法の特徴: 以上, 本法が化学反応系における定量分析, 反応速度の解析, 更に一次元空間内の分布情報の解析に使用できることを明らかにした. 本化学計測法は

Fig. 11 Typical one dimensional reaction heat-induced beam deflection image for the neutralization reaction

反応熱によるビーム偏向効果に基づくものであり, 新規の熱測定法になるのであろう. 従って, 熱量測定法あるいはカロリメトリー以外の化学反応計測法と比較すると, すべての反応系に適用できるという特長がある.

一方, 熱測定法あるいはカロリメトリーと比較すると, 本法が 4・5 節に述べたように, 化学反応の一次元分布測定を簡単にできるという特長を有する (更に化学反応の二次元, 三次元分布への測定に応用できる可能性もある). 又, 本法が化学反応系の *in-situ* 計測に適用できるのに対し, 従来のカロリメトリーでは測定対象物を温度制御するので, *in-situ* 計測に適しない. 現段階で本法の満足できないところは測定感度が十分ではないことである. 現在, 本法の反応物あるいは生成物の検出限界は μmol あるいはサブ μmol レベルであり, 温度制御を行う市販の熱量測定装置より低い. 本法の測定感度の向上が今後の一つの課題となる.

今後の課題と展望: 光熱偏向分光法での偏向信号の測定は高感度で, 10^{-3}°C 程度のような微小な温度変化でも測定できる. これは光熱偏向分光法での偏向信号がある周波数の交流信号なので, ロックインアンプによりその交流信号を検出するとき, その変調周波数と同一な周波数のノイズ成分のみを拾う. 従って, ノイズレベルは低い. 一方, 反応熱によるプローブ光の偏光信号はある特定の周波数の成分ではなく, 多数の周波数成分の無限和である. この場合, 偏向信号に含まれるノイズも多数の周波数成分の無限和であり, ノイズレベルは光熱偏向分光法よりはるかに大きい. このため, 本法は温度制御を行わない *in-situ* 測定でセル周辺の温度変化 (通常 0.1°C 程度) 以下の反応熱による偏向信号の測定は困難

である。現在、検出感度の向上を図るため、反応セルの最適化、ノイズの周波数成分分析、ノイズの補正、及び反応熱による偏向信号の積算などについて検討している。

又、反応熱によるプローブ光の偏向信号から、反応熱自体の測定については原理的には可能であるが、式(9)～(11)に示すように反応速度や熱導電率、屈折率の温度変化係数などの物理化学定数の正確な測定が必要とされる。一方、反応熱及び反応速度が既知のモデル反応を参照反応として用いれば、未知反応の反応熱を求めることも可能と考えられる。これも今後に残されたもう一つの課題である。

本研究にあたって、東京都立大学工学部工業化学科保母敏行教授、山田正昭、内山一美両助教授から終始貴重な指導と助言をいただきました。ここで深く感謝致します。又、本研究は文部省の科研費助成（課題番号 0870000, 05855120, 06650936）を受けたことを付記し、感謝の意を表します。

文 献

- 1) A. Velasco, M. Silva, D. Perez: *Anal. Chem.*, **64**, 2359 (1992).
- 2) X.-Z. Wu, T. Kitamori, T. Sawada: *J. Phys. Chem.*, **96**, 9402 (1992).
- 3) A. K. Campbell: "*Chemiluminescence: Principles and Applications in Biology and Medicine*", (1988), (Horwood, Chichester).
- 4) X.-Z. Wu, M. Yamada, T. Hobo, S. Suzuki: *Anal. Chem.*, **61**, 1505 (1989).
- 5) D. Betteridge, M. T. Joslin, T. Liley: *Anal. Chem.*, **53**, 1064 (1981).
- 6) T. Sawada, C. Abe, Y. Goshi, K. Furuya: *Anal. Chem.*, **57**, 366 (1985).
- 7) W. Wendlandt: "*Thermal Methods of Analysis*", 3d ed., (1986), (Wiley, New York).
- 8) 藤枝修子: *ぶんせき (Bunseki)*, **1993**, 615.
- 9) M. J. Muchlbauer, E. J. Guilbeau, B. J. Towe: *Anal. Chem.*, **61**, 77 (1989).
- 10) A. C. Boccara, D. Fournier, J. Badoz: *Appl. Phys. Lett.*, **36**(2), 130 (1980).
- 11) L. C. Aamodt, J. C. Murphy: *J. Appl. Phys.*, **52**, 4903 (1981).
- 12) J. C. Murphy, L. C. Aamodt: *J. Appl. Phys.*, **51**, 4580 (1980).
- 13) N. J. Dovichi: *CRC Crit. Rev. Anal. Chem.*, **17**, 357 (1987).
- 14) T. Kitamori, T. Sawada: *Spectrochim. Acta Rev.*, **14**(4), 275 (1991).
- 15) J. Wu, T. Kitamori, T. Sawada: *Anal. Chem.*, **63**, 217 (1991).
- 16) J. Wu, T. Kitamori, T. Sawada: *Anal. Chem.*, **62**, 1676 (1990).
- 17) J. Pawliszyn: *Spectrochim. Acta Rev.*, **13**(4), 311 (1990).
- 18) J. Pawliszyn, Michael F. W., M. J. Dignam, R. D. Venter, Su-M. Park: *Anal. Chem.*, **58**, 236 (1986).
- 19) J. Pawliszyn, Michael F. W., M. J. Dignam, R. D. Venter, Su-M. Park: *Anal. Chem.*, **58**, 239 (1986).
- 20) J. Pawliszyn: *Anal. Chem.*, **64**, 1552 (1992).
- 21) L. R. Lima, R. E. Synovec: *Anal. Chem.*, **65**, 128 (1993).
- 22) C. N. Renn, R. E. Synovec: *Anal. Chem.*, **62**, 558 (1990).
- 23) G. Chen, E. S. Yeung: *Anal. Chem.*, **60**, 864 (1988).
- 24) X.-Z. Wu, H. Shindoh, M. Yamada, T. Hobo: *Anal. Chem.*, **65**, 834 (1993).
- 25) X.-Z. Wu, H. Shindoh, M. Yamada, E. Kobayashi, T. Hobo: *Anal. Sci.*, **10**, 203 (1994).
- 26) X.-Z. Wu, H. Shindoh, T. Hobo: *Microchem. J.*, **49**, 213 (1994).
- 27) X.-Z. Wu, H. Shindoh, T. Hobo: *Anal. Chim. Acta*, **299**, 333 (1994).
- 28) X.-Z. Wu, H. Shindoh, T. Hobo: *Anal. Chim. Acta*, in press.
- 29) 呉 行正, 保母敏行, 北森武彦, 澤田嗣郎: 熱測定, **22**, 143 (1995).
- 30) X.-Z. Wu, K. Uchiyama, T. Hobo: *Anal. Lett.*, submitted.
- 31) H. S. Carslaw, J. C. Jaegew: "*Conduction of Heat in Solid*", (1959), (Oxford Uni. Press, London).
- 32) J. N. Demas, G. A. Grosby: *Anal. Chem.*, **42**, 1010 (1970).
- 33) S. S. Brody: *Rev. Sci. Instrum.*, **28**, 1021 (1957).
- 34) W. R. W. Lewis, L. J. Doemeny, L. J. Nemzek: *Rev. Sci. Instrum.*, **44**, 107 (1973).
- 35) X.-Z. Wu, J. Wu, J. Pawliszyn: *J. Electrophoresis*, **16**, 1474 (1995).
- 36) P. W. Carr, L. D. Bower: "*Chemical Analysis, Vol. 56: Immobilized Enzymes in Analytical and Clinical Chemistry*", (1980), (Wiley Interscience, New York).
- 37) G. M. Barrow: "*Physical Chemistry*", 4th ed., (1979), (International Student Edition, Tokyo).

要 旨

反応熱によるプローブ光の偏向を利用する新規 *in-situ* 化学計測法の原理, 装置系の作製, 及び応用について詳しく検討した. まず, 反応熱によるプローブ光の偏向信号の理論式を導出した. 次に中和反応をモデル反応として用い, その偏向信号の実測データと計算値とを比較した. 又, その他の測定条件の基礎的な検討も併せて行った. 更に, 本法が定量分析, フローインジェクション分析の検出器に使用できることと, 酵素反応系, 酸化還元反応系へ応用できることを明らかにした. 本法による反応速度の解析, 化学反応系の一次元空間分布情報の解析が可能であることも示した. 本法の課題及び今後の展開についても述べた.