

家蚕繭の光学的性質における性差：第2報 家蚕繭の蛍光分光特性

著者	二ノ方 兼武, 宮里 満
雑誌名	鹿児島大学農学部學術報告=Bulletin of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University
巻	18
ページ	199-205
別言語のタイトル	The Sexual Difference in the Silk Worm Cocoons relative to the Optical Properties : 2. Fluorescent Spectro-characteristics of Cocoons
URL	http://hdl.handle.net/10232/2279

家蚕繭の光学的性質における性差

第2報 家蚕繭の螢光分光特性

二ノ方兼武・宮里 満

The Sexual Difference in the Silk Worm Cocoons relative to the Optical Properties

2. Fluorescent Spectro-characteristics of Cocoons

Kanetake NINOKATA and Mitsuru MIYAZATO

(Laboratory of Agricultural Physics)

I 緒 言

筆者の1人はさきに家蚕繭の繭層について総合分光透過率をしらべた¹⁾が、引続き単色光の波長幅を10[m μ]にし、光電管の代りにサイドウインド形光電増倍管を使用して感度を高め、太平×長安、秋光×竜白について蚕蛹の入ったままの繭、あるいは蚕蛹のみの分光透過曲線を求めたが、ついに性差を得ることはできなかった。

次いでシリンダ形の内側が回転摺動できる2重側壁の暗箱を作り、外側のシリンダ壁には直角方向に2つの小窓を設け、その1つを内側のシリンダ壁に設けた1つの窓と合わせて暗箱中のホルダに置かれた試料を映写用の白熱灯で照射した後急速に内側シリンダを90°回して照射光を遮断するとともにもう1つの窓と合わせてその窓の外側に接続して置かれた他の暗箱内の光電増倍管によって微弱な燐光を検知しようとした。内側シリンダを90°回転するに要する時間は1/10[s]以内であるので急速に消滅する燐光以外は検知できる筈であり、もし家蚕繭の燐光作用に性差が得られるならば選別は極めて容易になるのであるが、このばあい感度を最大にしてもついに雌雄何れにもこれを検知することはできなかった。

最後に日立製203形分光螢光光度計を用いて螢光物質の雌雄による相違を見ようとしたが、これも選別に応用できる結果は得られなかったけれど、ここにはこの分光螢光についてののみ簡単に報告することにする。

II 測定装置

日立製203形分光螢光光度計は励起側、螢光側ともに分光に回折格子を用いるために、励起波長も分析波長も任意に得られる特長を有するもので、次に取扱説明書をもとにしてその要点を記す²⁾。

1. 光学系 Fig. 1. (a), (b) で光源1を出た光はレンズ系2, 3により収束して、入射スリット4で結像する。スリットを通った光はコリメーティングミラー5により平行光線となり回折格子に入射し、これによって分散された光はコリメーティングミラー7によって射出スリット8のところに結像せられ、単色光として取り出される。この単色光は平面ミラー9により直角に方向を変え、レンズ10により試料12の中心に結像する。この励起光により試料中に生じた螢光をレンズ系14, 15で収束し、前と同じように平行光線にして螢光側の回折格子によって分光した後射出スリット20を通して単色光とし、光電増倍管22に入れて光電流とし、これを直流増幅器で増幅し指示計器によって螢光スペクトルの強度を検知する。

光源には110[V], 1.1[A]の中圧水銀灯を用い、253.7[m μ]~577.0[m μ]の輝線スペクトルを生じその中相対強度最大の波長は365.0[m μ]である。

分光子には励起側、螢光側とも回折格子を用い、その格子定数は1/600[m m]、1次ブレイズ波長は300[m μ]、分散は12.5[m μ /m m]である。またスリットは励起側、螢光側とも0.8[m m]巾で単色光の波長幅は10[m μ]となっている。検知器としての光電子増倍管には浜松テレビK. K.製のR106形が用いられ管壁は溶融石英で作られ紫外部にも感度が大きい。

2. 電気系 分光透過、燐光検出に用いたときの東芝製サイドウインド9段形光電子増倍管MS-9Sに安定した直流電圧を供するための負高圧電源回路をFig. 2.に示す。

交流100[V]の単相電圧が変圧器T₂の1次側に供せられると、2次側に交流125[V]が生じ、半導体整流器SM-150dで半波整流され、C₄で平滑にされて定電圧放電管V₆で直流定電圧に保たれ、5極管V₂のスクリーングリッドに正電圧を供する。このときV₂

- | | | | |
|--------|---------------------|---|---------------------------|
| ① | Light source | ⑪ | Manual shutter |
| ②③⑩⑭⑮ | Lens | ⑬ | Interlocking auto shutter |
| ④⑧⑬⑯ | Slit | ⑫ | Sample |
| ⑤⑦⑨⑰⑲⑳ | Mirror | ⑳ | Detector |
| ⑥⑱ | Diffraction grating | | |

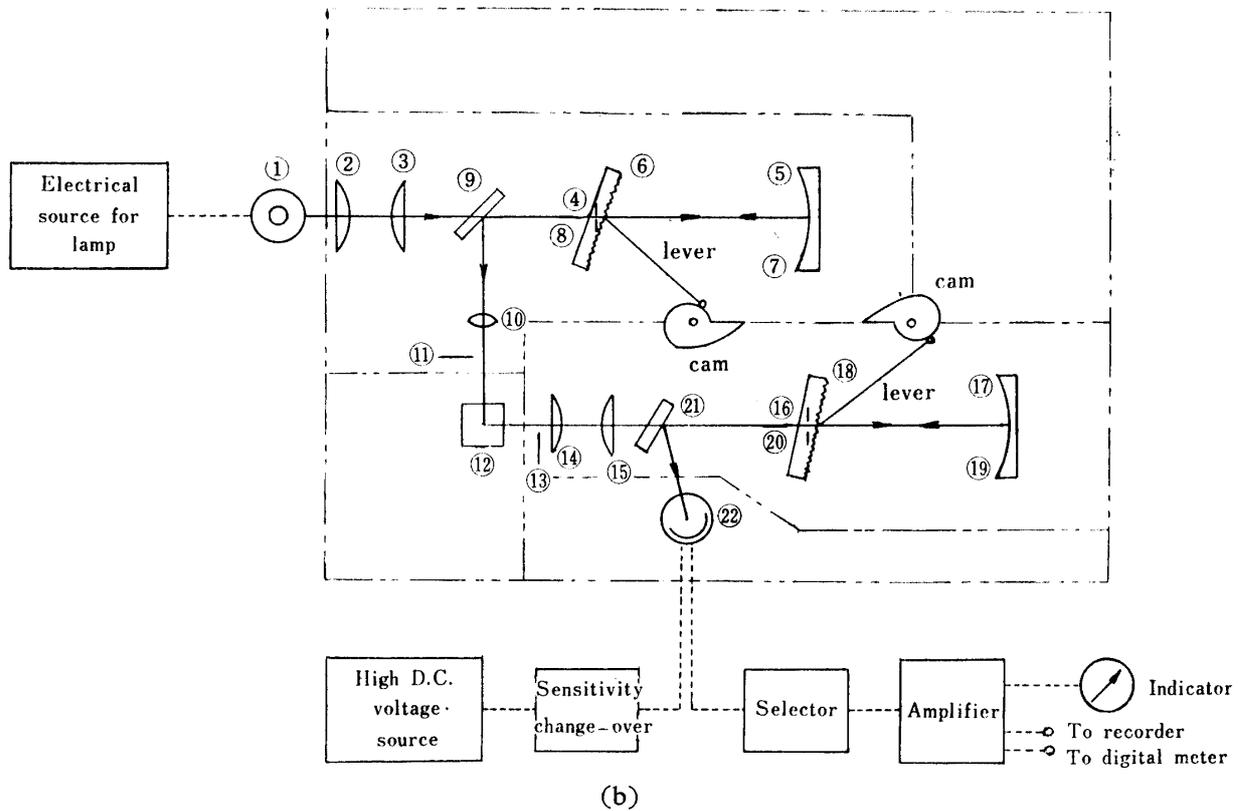
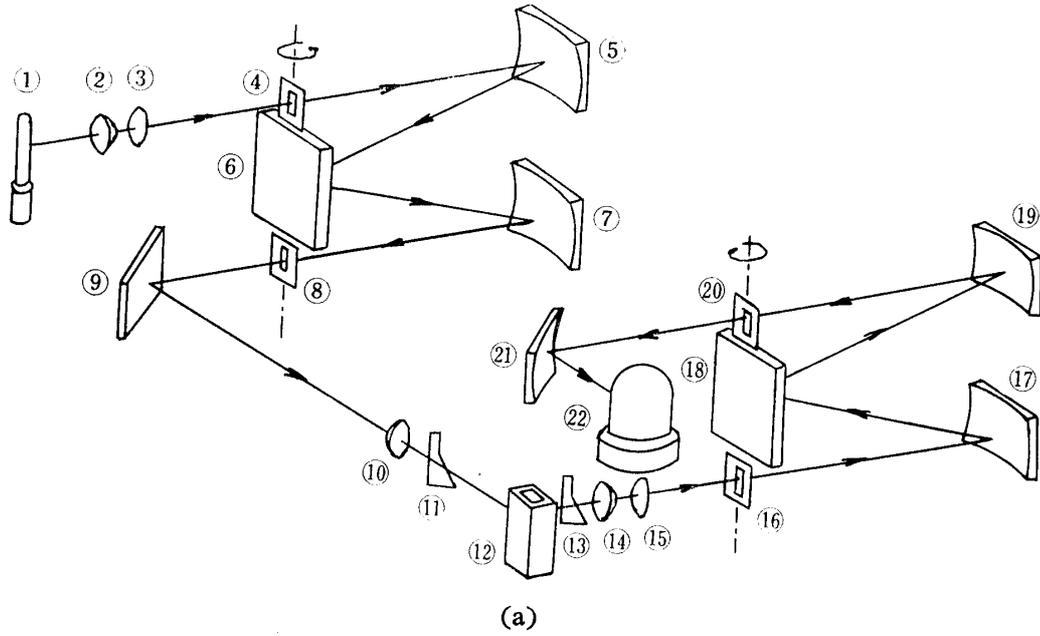


Fig. 1. Diagram in the optical system.

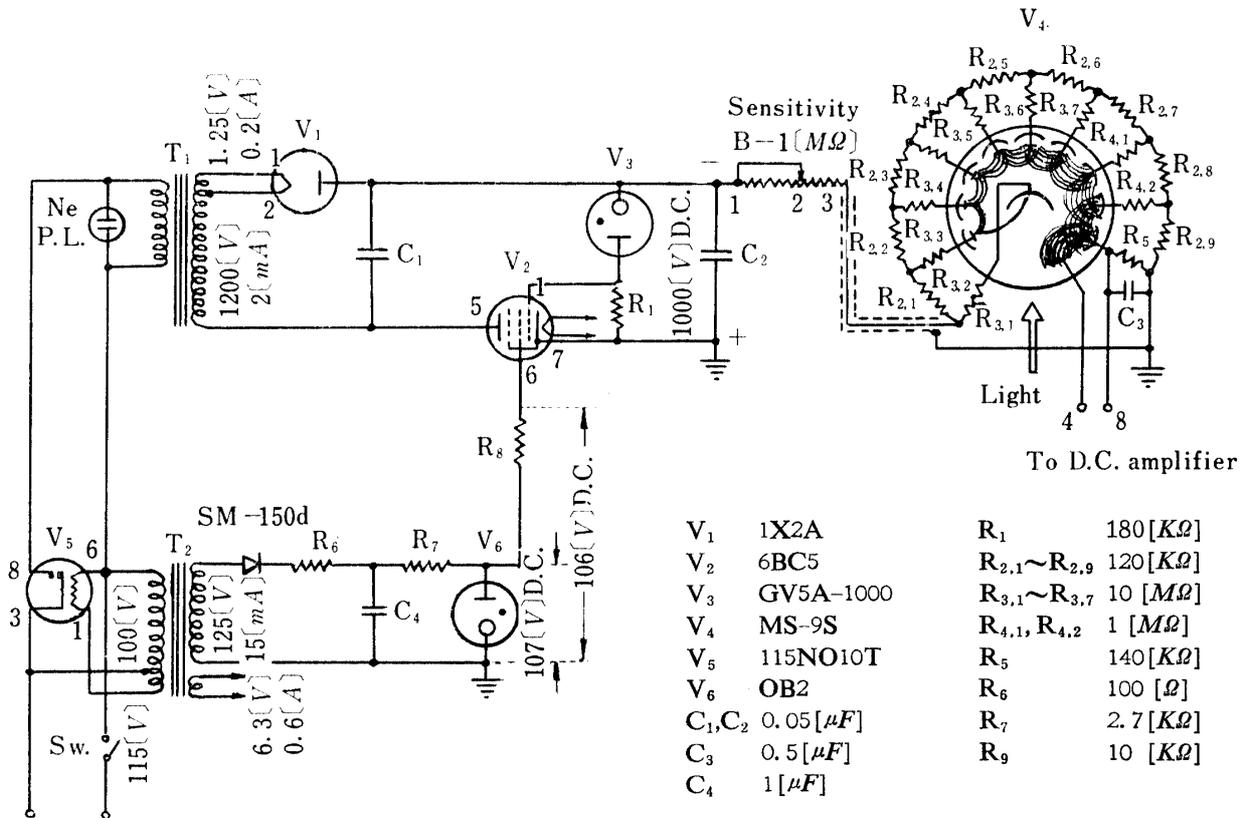


Fig. 2. Connection diagram of D. C. source for the photoelectric multiplier MS-9S.

のプレートに高電圧はかかっていないので、スクリーングリッドに電流が流れ電圧降下が生じてスクリーングリッドとアースとの間の電圧は 85[V] 位に低下する。数秒経過すれば V₅ のヒータによりバイメタルの接点は閉じ、変圧器 T₁ にも電圧が加わり 2 次側に交流 1200[V] が生ずる。これを高電圧整流管 V₁ により半波整流し C₁ で平滑にして正電圧をプレートに加えると、スクリーングリッドに流れる電流は減少してスクリーングリッドには図示のように正の一定電圧 106[V] がかかるようになる。

この回路は制御素子として真空管を用いた定電圧回路の中最も簡単なもので、もう 1 つ検出素子となる直流増幅管を R₁ と V₃ との間に入れて出力電圧をポテンショメータで取り出してその直流増幅管の制御グリッドにかけると更に電圧変動率を少なくすることができる³⁾。V₂ の制御素子真空管は R₁ の電圧降下変動を制御グリッドに与え、この調整信号に応じて内部抵抗を変化して出力電圧を一定値に戻すように働く。つまり負荷電流に対して可変抵抗の働きをするものである。

B-1 [MΩ] は感度調整用抵抗で、図の端子 1, 3 間は 1 [MΩ] で 2, 3 間の抵抗を R_s [KΩ] とすれば、

ブリーダ抵抗の全部すなわち $\sum_{n=1}^9 R_{2,n} = 120 [KΩ] \times 9 = 1080 [KΩ]$ の両端に印加する電圧 V は

$$V = 1000 \frac{1080}{1080 + R_s} [V]$$

で与えられる。2, 3 間の抵抗 R_s [KΩ] および全ブリーダ抵抗の両端に加わる電圧 V [V] を測定した結果は Fig. 3. のようである。横軸の目盛は端子 1, 3 間の距離を 100 とするときの 1, 2 間の相対的距離を表わす。光電増倍管のダイノードの段数を n とすれば出力電流の増幅度は全ブリーダ抵抗の両端に印加する電圧 V [V] の n 乗にほぼ比例して変化する。したがって出力の変動を少なくおさえるには直流電源電圧の変動は極めて少ないものでなければならないことがわかる。日立 203 形分光螢光光度計のばあいは、感度調整用抵抗のつまみは連続可変にしないで 1 より 12 まで 11 のステップに不連続に切りかえ、1 段切りかえる毎に指示計器のふれは約 2 倍の感度が得られるような電圧 V が全ブリーダ抵抗の両端に印加されるようになっている。したがって 1 の位置から 12 の位置にすれば、感度は 2¹¹ = 2000 倍になる。このような感度調整つまみの目盛位置における V [V] の値を表示すれば Table 1. のようになる。

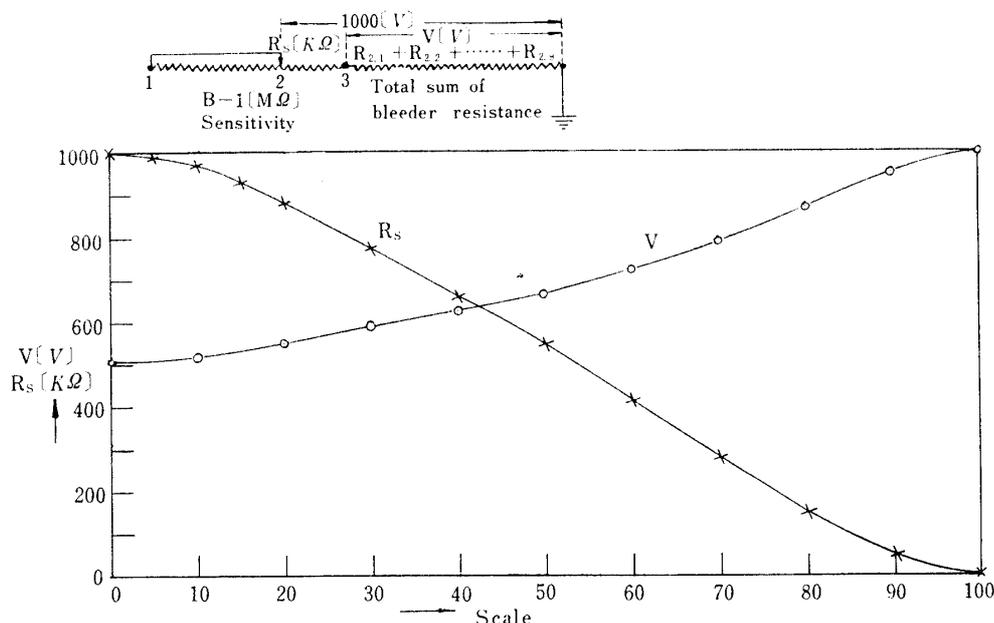


Fig. 3. Applied voltage to the photoelectric multiplier and sensitivity resistance respondent to the division of sensitivity scale.

Table 1. Applied voltage V respondent to the division of the dial scale, as twice sensitivity should be obtained every one stage of dial change.

Dial scale	$V[V]$						
1	368	4	464	7	592	10	767
2	398	5	502	8	648	11	829
3	430	6	544	9	710	12	900

日立 203 形分光蛍光光度計では、光電増倍管に供する直流高圧は、まず単相交流 100[V] を変圧器で降圧して整流し直流電圧にする。次に定電圧にして、これをまた交流に変換した後電圧をあげ、倍電圧整流して再び高圧直流にする。この電圧を定電圧回路に帰還しドリフトを少なくして光電増倍管にかかる電圧を一定にしている。

以上のようにして光電増倍管 V_4 に印加する電圧 V [V] を一定にすれば、 V_4 の窓より入射する光の量に比例する出力電流を端子 4, 8 より取り出すことができる。したがって第 1 報に記した Fig. 2. の回路において $V-6$ の光電管をとり去り、この光電増倍管の端子 4, 8 を Fig. 2. の同じ端子位置につなげば、直流増幅されて極めて高感度で入射光に比例する指示が得られる。

日立 203 形分光蛍光光度計のばあいには、別に増幅器の高抵抗を切り換えて、感度を $\times 0.1$, $\times 1$, $\times 10$ と 1 段毎に 10 倍づつかえる 3 段切り換えのセレクトつまみがついている。

III 実験方法および結果

この実験は家蚕繭の雌雄による蛍光体の有無強弱の別を見るのが目的で、この立場より f 数の小さいいわゆる明るいしかもできるだけ分散が大きい分光器を選ぶ必要がある。分散が大きいことと明るいことは相反することであるが、日立 203 形分光蛍光光度計は、焦点距離 123[mm], f 3 で、600[グループ/mm] の回折格子を用い、分散は 12.5 [$\mu\text{m}/\text{mm}$] であり、この目的に適したものである。

試料の家蚕繭は繭層の長軸方向の一端を一部を残して切り、蛹を出して雌雄の別を肉眼で鑑別した後、蛹をもとに戻しておく。試料室のセルホルダは 90° づつ回転する回転台にのついで 4 個のセルが挿入でき、レバーでセルを入れたまま 4 回連続切り換え測定できるようになっているが、本測定のばあいには 1 個の試料測定毎に試料室カバーを開いて、セルホルダの 1 つのセルの位置に 1 粒の繭を長軸方向が垂直になるよう立てて置くようにした。

分光螢光光度測定装置中の光電増倍管は特定の分光感度をもっている。また分光器（回折格子）も特定の波長特性をもっており、各波長に対し一定のエネルギー分布をもつ光を入れても、これを通過してくる光は一定分布をもたなくなっている。この他光の通る道すじにおけるレンズ、鏡等の吸収、反射も真の発光スペクトルを変える波長特性をもっている。したがって真の発光スペクトルを求めるには、エネルギー分布の測定されているタングステン電球の標準光源を用いて、波長の関数として得られる使用測定装置の補正曲線を求めておく必要がある。しかし分光透過のばあいと同じように、選別に用いる目的のためには、測定装置の特性

も含まれる総合分光螢光特性に相違が現われることが望まれるので、この特性だけについてしらべることにした。

試料は秋光×竜白の家蚕繭雌雄各 10 粒をとり、蛹の入った繭と繭層だけとについてその分光螢光特性を求めた。最大の螢光の出るための励起波長は 365 [m μ] であった。いまこの励起波長に対する分光螢光特性を雌雄おのおの No. 1 より No. 4 までの繭について図示すれば、雌は Fig. 4., 雄は Fig. 5. となる。

IV 考 察

指示計器のふれは試料の位置によって異っているの

Sample "Shūko" × "Ryūhaku" ♀
Exciter wave length 365 [m μ]

— ♀_{n(L,Ch)} Cocoon layers of ♀_n with chrysalis
- - - ♀_{n(L)} Cocoon layers of ♀_n

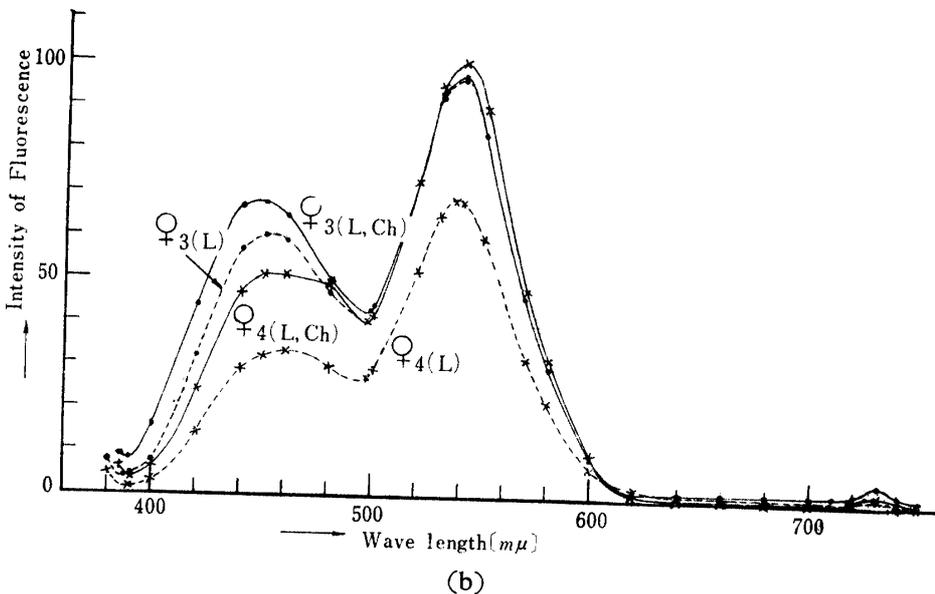
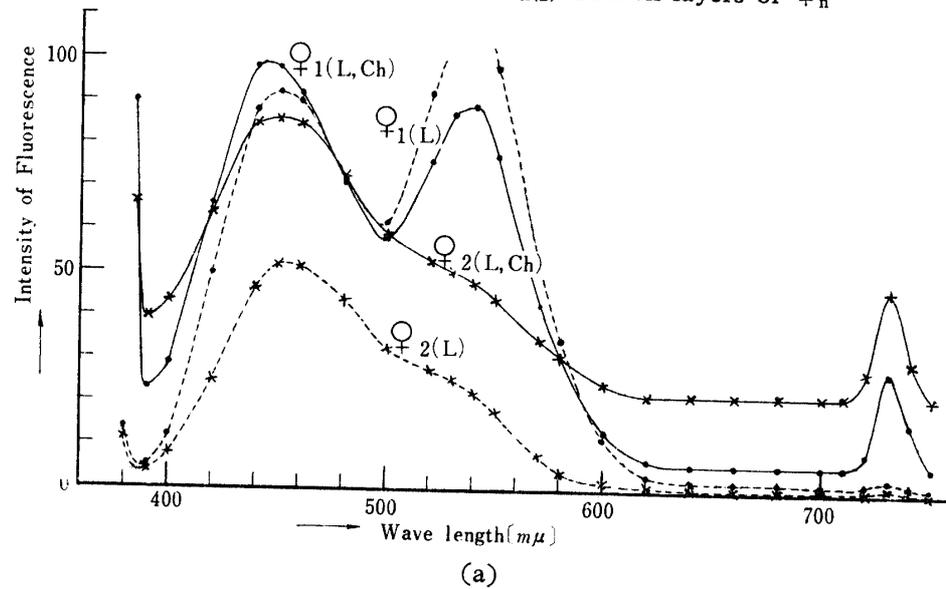
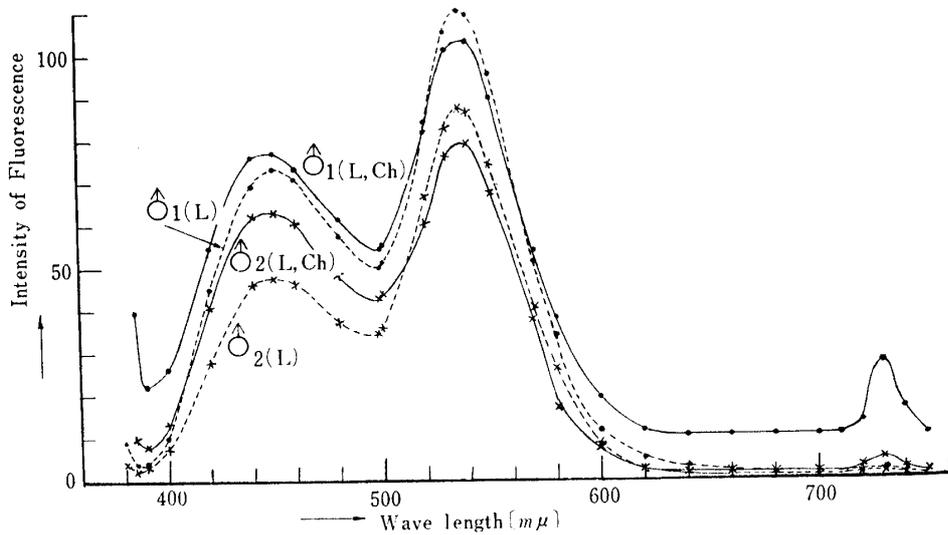
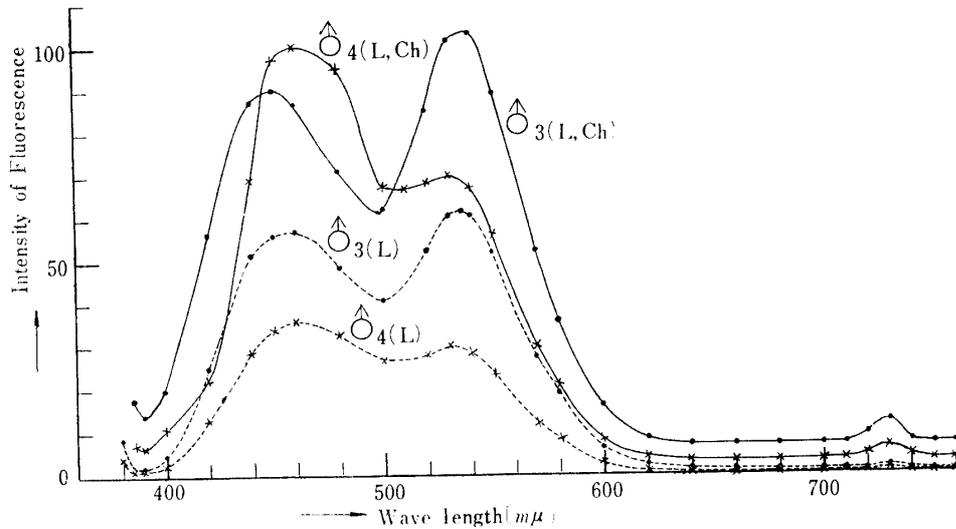


Fig. 4. Fluorescent spectrum of the female silk worm cocoons.

Sample "Shūko"×"Ryūhaku" ♂ — $\phi_{n(L,Ch)}$ Cocoon layers of ϕ_n with chrysalis
 Exciter wave length 365[m μ] - - - $\phi_{n(L)}$ Cocoon layers of ϕ_n



(a)



(b)

Fig. 5. Fluorescent spectrum of the male silk worm cocoons.

で個々の試料の比較的指示値を求めることは無意味であり、各試料は任意の感度で測定してある。もちろん1つ1つの試料については、各波長に対する蛍光の強さは比較的の指示値を示している。雌雄各10粒についてのこれ等の曲線を見ると、Hg 365[m μ]の励起波長の刺激を受けるとき、雌雄とも大体蛍光波長450[m μ]、540[m μ]、730[m μ]のところに蛍光光度の山があり、その大小は雌雄の別にかかわらず、また同じ性のもでも個々の別によってまちまちである。また繭層だけのときと蛹が中にあるときでも、最大値を示す波長に幾分ずれがあるようであり、曲線の傾度も変化する

ところがあるように見える。前者は蛍光物質の含有量が雌雄の別なく個個によって異なることを示し、後者は繭層と蛹とによって相当の相違があることを示すものと思われる。後者については、蛹だけの特性を求めればもっとはっきりするが、蛹だけを保持するホルダが間に合わず測定できなかった。

この実験では、更に進んでこれらの蛍光スペクトルが混合された蛍光か否かを判定するために、光源に連続スペクトルを出すキセノンランプを用いて励起スペクトルを測定し、種種の励起波長に対する蛍光スペクトルを求めなければならなかったが、ここにはこの付

属部品がなかったためと、繭の出る時期と発蛾までの期間に制限されて果すことができなかった。

なおこの測定を行うに当っては、本学医学部生化学教室の好意により同教室備えつけの測定装置を使用したことを感謝する。またこれらの実験で測定や実験装置の部品製作等に労を煩わした、学生山村侑介君に感謝の意を表す。

V 摘 要

1. 試料を光路中の焦点以外の位置に置いて、家蚕繭の平均の分光特性を測った。これらの特性の測定には、10[m μ]の波長幅をもった単色光が用いられ、また検出器としてサイドウインド形光電増倍管が用いられた。併しこの特性中には、雌において透過光の強さが比較的小さいということ以外は、何等両性の選別に必要な要素は見出されなかった。

2. 雌雄の別による燐光放射の有無または強弱があるならば、容易に両性の選別ができるであろう。しか

しながら実験からは全然両性ともに燐光は認められなかった。

3. 最も効果的な励起波長である Hg 365[m μ] で試料を刺激して、秋光×電白の両性各 10 粒に対する多くの螢光分光特性が得られた。これ等の特性の形状は 2 つの性に無関係に、1 つ 1 つ異っていた。

4. 更に励起スペクトルを測定した上、種種の励起波長に対する螢光スペクトルを求むべきであるが、連続スペクトル光源としてのキセノンランプがなかったためと、試料を入手する期間の制限のために、実験は未だ完了していない。

文 献

- 1) ニノ方兼武：鹿大農学術報告，**17**，271～280 (1966)
- 2) 飯田・大野・神前・熊谷・沢田：物理測定技術，**5**，1～152，382～427 (1967)
- 3) 東芝編集委員会：東芝電子管ハンドブック特殊管編，**1**，354～357 (1963)

Summary

1. The average spectral characteristics of the silk worm cocoons were measured with the sample laid out of the focus on the light path. These characteristics were measured with the use of the monochromatic light with the wave length of 10 [m μ], and with the use of the side-window type photomultiplier for detector. But no particular factor for the selection of sexuality was found in this assessment of the spectral characteristics, except the fact that the intensity of the penetrating light was comparatively low in females.

2. Any indication of the potential existence of the delayed light emission with its density-degree clarified, if obtained, would enable us to make a facile discrimination between the both sexes, but in our experiments no such recognition of phosphorescence was made in either of the two sexes.

3. As the result of the samples being excited at Hg 365 [m μ] which is the most effective exciter wave length, a lot of fluorescence spectrocharacteristics were obtained of the respective group consisting of 10 pieces of the both sexes of "Shūko" × "Ryūhaku". The figures of these characteristics were different respectively, without having any connection with the discrimination of the sexes.

4. Now, in succession to the measurement of exciter spectrum, the execution of the measurement of the fluorescence spectrum for the various exciter-wave-lengths was naturally expected; but this was prevented, to the authors regrets, by the lack of the Xenon lamp necessary for the continuous spectrum-light source, and by the limitation of the time allowed for securing the samples.