

UV

TALK LETTER

Vol. 15
May 2015



光反応量子収率評価システムQYM-01の紹介 …… P. 2

アプリケーション 高懸濁試料に対する簡易定量法の紹介 …… P. 6

Q&A 紫外可視分光光度計でどれくらいの吸光度まで正確に測定できますか? …… P. 12

UV TALK LETTER

光反応量子収率評価システムQYM-01の紹介

光触媒等を含む光反応の研究では、どの波長の光を吸収し反応が進むか(励起波長)とともに吸収した光をどの程度効率よく反応に利用することができるかを評価することが重要となります。この吸収した光の反応への利用効率を示す指標を光化学反応における量子収率と言い、この値を測定する代表的な装置に化学光量計があります。しかし化学光量計で量子収率を数値化するには、大変な時間と労力が必要です。今回、化学光量計より正確で簡便に量子収率を求めることができる光反応量子収率評価システムQYM-01を開発しましたので紹介します。なお、量子収率には、光反応の量子収率と発光の量子収率がありますが、QYM-01は光反応の量子収率を測定する装置です。

1. 光化学反応における量子収率とは

量子収率とは、光化学反応において実際に化学変化を起こした分子の数と吸収された光子の数との比をいいます。(出典:岩波理化学辞典 第3版増補版)

すなわち、光を吸収して化学反応が起こる場合、反応により生成

した分子の数もしくは変化した基質分子の数 n と、吸収された光子(フォトン)の個数 m との比 n/m が量子収率です。例えば図1に示すように光子3個を吸収した場合に基質分子1個が反応すれば、この場合の量子収率は $1/3$ (≈ 0.33)となります。

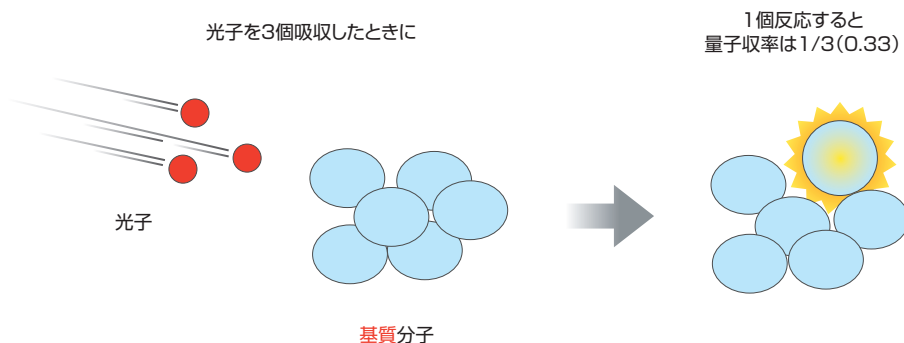


図1 対象分子が光子を吸収して化学反応を起こした場合の量子収率換算例

なお、蛍光やりん光などの発光現象においても「量子収率」は測定されますが、発光における量子収率は吸収した励起光の光子数と発光された光子数の比を言います。

2. フォトン数計測の従来法

光化学反応における量子収率を測定する方法として化学光量計があります。これは量子収率既知の物質に光反応用の励起光を照射し、その反応生成物量から照射光量を求めるものです。鉄オキシサト化学光量計はその代表的なもので、3価の鉄が紫外光や可視光の吸収により2価に変化する還元反応を利用し、生成した2価の鉄の定量値と鉄オキシサトの量子収率から照射光量を求めることができます。

鉄オキシサト化学光量計の実験は光反応用励起光の照射光量を求め、次に同じ照射条件下において実際の試料溶液を光反応させることで、照射光量既知の条件下での光反応実験が可能です。この鉄オキシサト化学光量計は広く用いられている標準的な方法ですが、次のような短所があります。

- ① 鉄オキシサトは太陽光や蛍光灯など室内の光によっても反応するため、試料調製から実験までのほとんどの操作を暗室内で行う必要があります。正確な測定には熟練が必要。
- ② 波長や光量など励起光の照射条件を変更するたびに化学光量計による照射光量実験が必要。
- ③ 化学光量計で得られるのは照射光量のため、実際の試料溶液による吸収光量を得るには別途紫外可視分光光度計による吸光度測定が必要。
- ④ 反応中間体などによる光反応中の試料溶液の吸光度変化を補正できない。
- ⑤ 長時間の実験で起こりえる光源の光量変化を補正できない。
- ⑥ 実際の励起光の波長は単一ではなく幅を持つが、その波長分布を補正できない。

一方、化学光量計よりも簡便に照射光量を測定する装置としてパワーメーターやシリコン光量計などの測定機器があります。しかし、これらの機器も化学光量計と同じく上記②～⑥の欠点があり、さらに機器の測定位置や角度などにより測定結果が影響を受けます。

3. 光反応量子収率評価システムQYM-01¹⁾

図2は光反応量子収率評価システムQYM-01の外観写真です。QYM-01は、励起光を試料溶液に照射した際の試料による吸収光子数を正確かつ簡便に測定することができる装置です。また、光反応中の紫外可視吸収スペクトルをモニタリングすることも可能です。国家計量標準トレーサブルで絶対光量値が管理された光量計を用いて校正された分光器を内蔵しており、化学光量計による校正作業は必要ありません。さらに、吸収光子数は照射光量と試料の

吸光度に依存しますが、この照射光量と試料の吸光度は光反応中一定とは限りません。

QYM-01は、光源光量変化の補正機能と紫外可視吸収スペクトルのモニタリングにより、照射光量や吸収率の変化にも対応した正確な測定が行えます。QYM-01は均一系光触媒の内部量子収率評価や光化学反応のin situ測定に最適なシステムです。



図2 光反応量子収率評価システムQYM-01外観写真
(朝日分光製キセノン光源MAX-303とのシステム外観)

4. QYM-01の装置構成

図3はQYM-01の構成概略図です。QYM-01は光反应用励起光源部と測定部で構成されており、これらを同一ソフトウェアで制御します。励起光源部から光ファイバーを通して試料に照射された励起光は再度光ファイバーを通して分光検出部に入り、校正されたPDA検出器で波長毎の光量を測定します。励起光の波長、照射強度はそれぞれ励起光源部内のバンドパスフィルター、連続可変NDフィルターで変更できます。さらに測定部にNDフィルターを追加することで照射強度を0.5%まで下げることが可能です(オプション)。

試料の紫外可視吸収スペクトルは励起光の光軸と直交する方向で測定します。スペクトル測定用光源(キセノンフラッシュランプ)は設定時間毎に10 msのみ点灯し試料に白色光を照射します。試料からの透過光は光ファイバーを通して検出部で分光、検出し、紫外可視吸収スペクトルを得ます。紫外可視吸収スペクトルは最速1 s間隔で自動測定することができます。

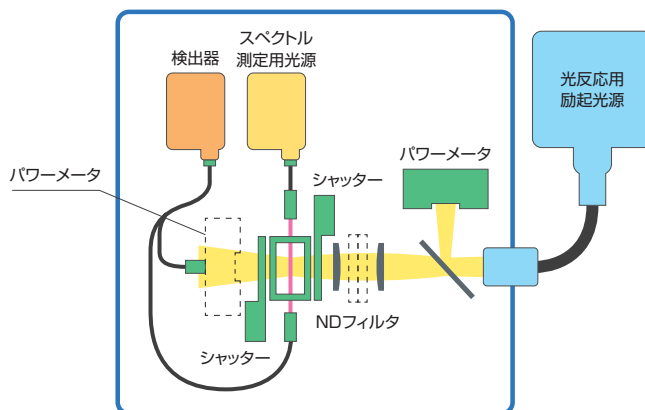


図3 QYM-01構成概略図

5. 測定例

5-1. 照射光量測定によるQYM-01と化学光量計(鉄オキサライト)の比較検証

鉄オキサライト化学光量計とQYM-01で吸収光量測定の比較検証を行いました。トリオキサライト鉄(III)カリウム水溶液に対しQYM-01を用いて光反应用励起光を照射し吸収光子数を測定するとともに、照射時間の異なる溶液に対し第5版実験化学講座「トリオキサライト鉄(III)カリウム化学光量計」に沿って鉄(II)の生成量から吸収光子数を求めました。

実験結果として照射時間と吸収光子数のプロットを図4および図5に、実験条件とそれぞれで求めた1秒あたりの吸収光子数をTable 1に示します。

これらの結果より、QYM-01での測定結果は鉄オキサライト化学光量計と同様であり、両者の差異は5-6%程度であることが分かります。

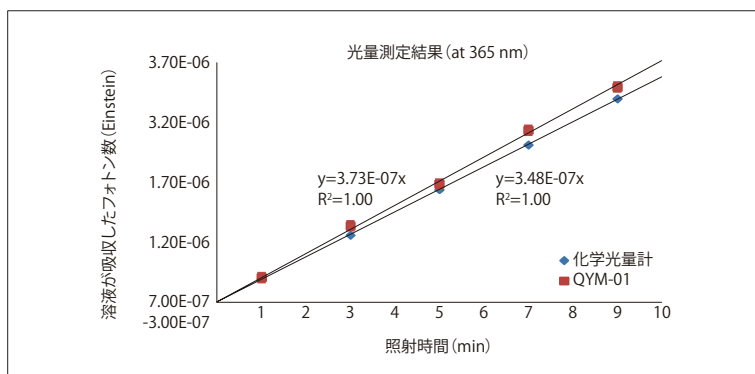


図4 365 nmでの光量測定結果

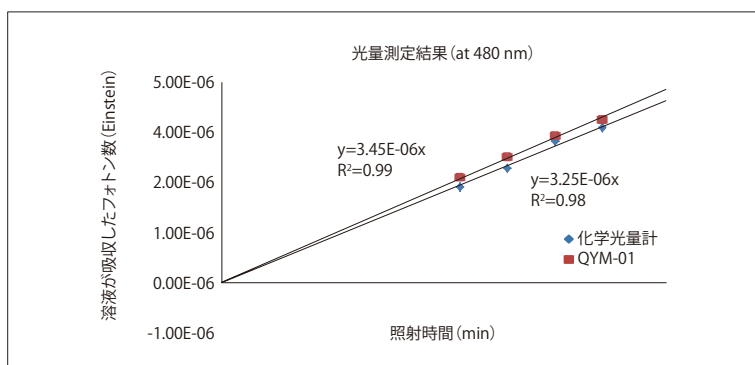


図5 480 nmでの光量測定結果

Table 1 実験条件と吸収光子測定結果

	実験1	実験2
励起光波長	365 nm(キセノンランプ)	480 nm(キセノンランプ)
試料濃度	6 mM	150 mM
量子収率(第5版実験化学講座記載値)	1.22	0.94
	吸収光子(einstein/s)	
化学光量計	5.84×10^{-8}	5.40×10^{-8}
QYM-01	6.19×10^{-8}	5.78×10^{-8}

5-2. Ru-Re超分子錯体型光触媒によるCO₂還元反応の量子収率測定

Ru-Re超分子錯体型光触媒による二酸化炭素還元反応の量子収率測定を行いました。QYM-01で吸収光子を測定し、還元反応で生成する一酸化炭素の定量にはガスクロマトグラフを用いました。実験条件をTable 2に、吸収光子数と一酸化炭素生成量の

プロットを図6に示します。図6の傾きが量子収率を表しています。今回の実験条件での一酸化炭素生成反応量子収率は0.15と報告²⁾されているのに対し、今回の実験では0.16という結果が得られました。

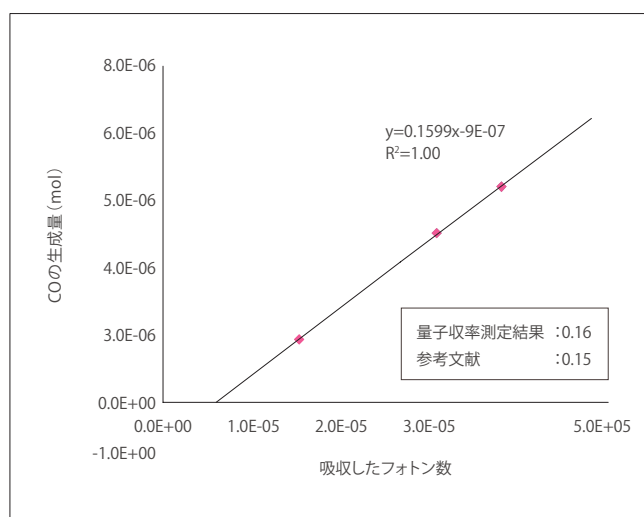


図6 Ru-Re超分子錯体型光触媒によるCO生成反応の量子収率測定

Table 2 Ru-Re超分子錯体型光触媒によるCO₂還元反応実験条件

光触媒	Ru-Re(FPh)(東京化成工業製、製品番号RO100、精製せずに使用)	
反応条件	光触媒	Ru-Re(FPh)(0.3 mM)
	犠牲還元剤	BNAH(0.1 M)
	溶媒	DMF-トリエタノールアミン(5:1 v/v混合溶媒)
	溶液量	4 mL
	照射光	480 nmキセノンランプ
操作手順	反応容器	枝つき石英四面セル(体積11 mL、気層7 mL、液層4 mL)
	調製溶液を4 mLホールビュートで枝つき四面セルへ移し、CO ₂ で30分バブリング後セプタムで密栓(3本用意)その後1時間、2時間、2.5時間光を照射し、それぞれの気層からガスタイトシリンジで100 μ L採取しGCにてCOを定量	
参考文献	Y. Tamaki, K. Watanabe, K. Koike, H. Inoue, T. Morimoto, O. Ishitani, Faraday Discuss. 2012, 155, 115.	

6. まとめ

光反応量子収率評価システムQYM-01を用いることにより、化学光量計よりも簡便で正確に吸収光子数を測定することができます。また、照射実験中の紫外可視吸収スペクトルをモニタリングすることも可能です。このように、光反応量子収率評価システムQYM-01は均一系光触媒の内部量子収率評価や光化学反応のin situ測定に最適なシステムです。

謝辞

測定例でご紹介した2種類の実験データは東京工業大学大学院理工学研究科 化学専攻 石谷・前田研究室よりご提供いただきました。深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) 光反応量子収率評価システムQYM-01は東京工業大学 大学院理工学研究科 化学専攻 石谷・前田研究室と共同開発した特注対応品です。
- 2) Y. Tamaki, K. Watanabe, K. Koike, H. Inoue, T. Morimoto, O. Ishitani, Faraday Discuss. 2012, 155, 115.

高懸濁試料に対する簡易定量法の紹介

近年、微細藻類から燃料となるオイルを取り出す研究が盛んに行われています。微細藻類の研究では日々成長する藻類の成長度合を調べることで(藻類の濃度を定量すること)が重要です。藻類濃度の定量にはろ紙を用いた乾燥重量法が主に用いられますが、乾燥重量法は時間がかかるためより簡単な方法が求められています。今回、分光光度計を用いて水に分散した微細藻類懸濁液を簡便に定量することができる島津UV微細藻類分析システムを開発しました。本システムには、高懸濁試料に対応した反射法(特許出願中)と、低懸濁試料に対応した透過法がありますが、ここでは反射法を用いて高濁度の微細藻類ナンノクロロプシス懸濁液を測定した例を紹介します。

また、食品分野においても濁度の高いものがあります。製造過程において希釈・混合により生産される飲料の濃度が一定かどうかを調べる必要がありますが、その目的にも本システムは有用です。今回、乳酸菌飲料と青汁の濃度(希釈率)を評価しましたので合わせて紹介します。

1. 高懸濁試料に対する簡易定量法の紹介

1-1. 微細藻類ナンノクロロプシス

微細藻類ナンノクロロプシス濃縮液(株式会社ヒガシマル製、100億 cell/mL)を順次純水で希釈し、0%から100%まで12濃度の試料を調製しました。試料の外観を図1に示します。これら試料を二つに分け、それぞれを検量モデル作成用標準試料、検量モデルをチェックするための検証用試料として使用しました。それらをTable 1、Table 2に示します。



図1 微細藻類ナンノクロロプシス

Table 1 標準試料

標準試料	濃度(%)
①	100
②	90
③	80
⑤	60
⑥	50
⑦	40
⑨	20
⑩	10
⑫	0(純水)

Table 2 検証用試料

検証用試料	濃度(%)
④	70
⑧	30
⑪	5

1-2. 測定装置

島津UV微細藻類分析システムは、紫外可視分光光度計UV-2600と藻類分析用積分球付属装置を組み合わせたシステムです。使い捨てのスクリー管瓶に入れた試料を図2のように積分球付属装置に設置して全光線反射率を測定します。この測定では使い捨ての

スクリー管瓶を使うので測定セルの洗浄等の面倒な操作が不要となり、また洗浄不良によるキャリーオーバーやコンタミネーションの心配もありません。



図2 藻類分析用積分球付属装置

1-3. 測定結果

Table 1とTable 2の試料12点の全光線反射率を測定しました。スクリー管瓶を取り換え同じ試料を2回ずつ測定しました(12点×2=計24データ)。その結果を図3に、測定条件をTable 3に示します。濃度が高いものほど反射率が高く、濃度が低いものほど反射率が

低い結果となり、濃度と相関のあるデータが得られています。本測定の原理図を図4に示します。微細藻類の細胞数が増えるほど液表面付近で光が反射する割合が増え、その結果反射率が増大します。

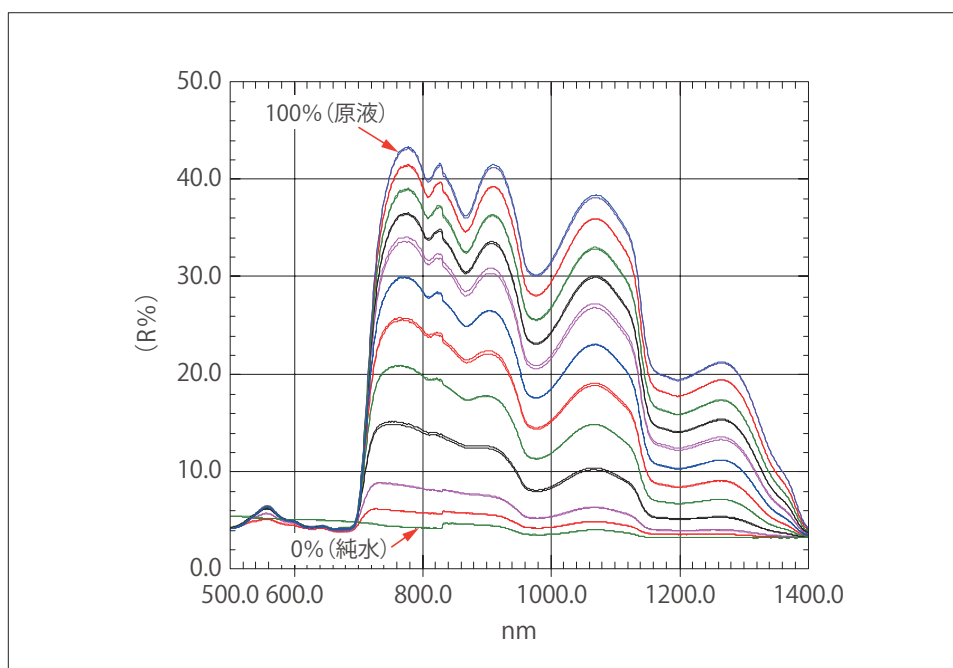


図3 微細藻類の反射スペクトル

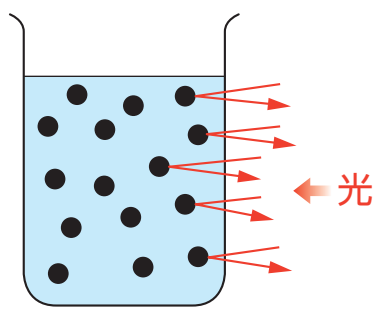


図4 原理図

Table 3 測定条件

使用装置	紫外可視分光高度計 UV-2600 藻類分析用積分球付属装置
測定波長範囲	500 nm～1400 nm
スキンスピード	高速
サンプリングピッチ	1.0 nm
測光値	反射率
スリット幅	5 nm

1-4. 定量結果

取得した反射スペクトルを用いて微細藻類の定量を試みました。今回、単回帰法と多変量解析の重回帰法の二つの方法で定量を行い、その定量精度を比較しました。Table 1の試料を標準試料としてそれぞれの検量モデルの回帰式を得ました。重回帰法では、その回帰式を図5のように標準ソフトウェアUVProbeのフォトメトリック測定メソッド画面に入力します。このように設定することで、試料を測定する毎に回帰式から計算される予測値がソフトウェア上に算出されます。

Table 2の検証用試料の反射率から濃度を算出した結果をTable 4に示します。結果を比較すると、単回帰法よりも重回帰法の方が良好な結果となっていることがわかります。このように回帰式を

標準ソフトウェアUVProbeに入力するだけで未知試料を簡単に測定することができます。なお、重回帰法での回帰式はMicrosoft社製表計算ソフトウェアExcel[®] 1)の「回帰分析」機能を用いて求めました。Table 4のRMSEPは、図6で定義される値で、予測値と真値との平均的な差を表す指標です。RMSEPが小さいほど予測精度が良いと言えます。単回帰法に関しては、UVProbeソフトウェアの標準の検量機能を用い定量を行いました。なお、単回帰法では910 nmの一波長データを使用し、重回帰法では870 nm、910 nm、980 nm、1070 nmの四波長データを使用して計算しました。

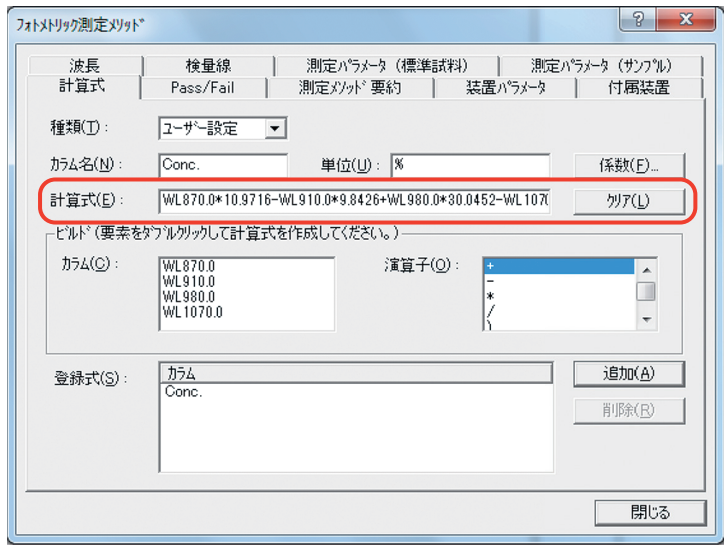


図5 UVProbeソフトウェアのフォトメトリック測定メソッド画面

Table 4 検証用試料に対する各検量モデルの予測結果

検証用試料	真の濃度(%)	単回帰法の予測結果(%)	重回帰法の予測結果(%)
④ - 1	70	72.9	69.2
④ - 2	70	73.4	69.1
⑧ - 1	30	32.4	28.3
⑧ - 2	30	32.3	30.0
⑪ - 1	5	1.4	5.3
⑪ - 2	5	1.5	5.4
RMSEP		3.1	0.87

$$RMSEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y'_i - y_i)^2}{N}}$$

y'_i は予測値、 y_i は実際値、 N は評価用試料数。
* RMSEP: Root Mean Square Error of Prediction

図6 RMSEPの定義式

2. 乳酸菌飲料の測定

高懸濁試料である市販の乳酸菌飲料を測定しました。微細藻類の場合と同様に、乳酸菌飲料を順次純水で希釈し、0%から100%まで12濃度の試料を調製しました。試料をTable 1、Table 2と同様に二つに分け、それぞれ検量モデル作成用標準試料、検量モデル検証用試料として使用しました。試料の外観を図7に、その反射スペクトルを

図8に示します。標準試料を用いて単回帰法と重回帰法の検量モデルを作成し、それぞれのモデルを検証用試料を用いて検証した結果をTable 5に示します。重回帰で良好な結果が得られました。なお、単回帰法では430 nmの一波長データを使用し、重回帰法では430 nm、500 nm、700 nmの三波長データを使用しました。



図7 乳酸菌飲料

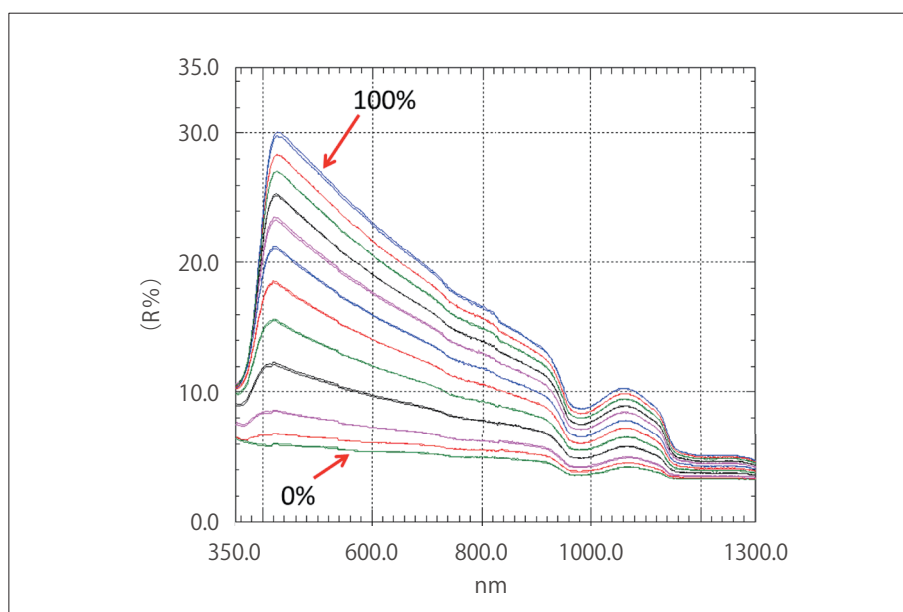


図8 乳酸菌飲料の反射スペクトル

Table 5 検証用試料(乳酸菌飲料)に対する各検量モデルの予測結果

検証用試料	真の濃度(%)	単回帰法の予測結果(%)	重回帰法の予測結果(%)
④ - 1	70	73.53	69.98
④ - 2	70	73.93	68.60
⑧ - 1	30	33.43	30.54
⑧ - 2	30	33.91	30.20
⑪ - 1	5	-1.74	5.20
⑪ - 2	5	-1.69	5.20
RMSEP		4.92	0.63

3. 青汁の測定

液体状態で販売されている青汁液を試料として用いました。微細藻類、乳酸菌飲料の場合と同様に、順次純水で希釈し、0%から100%まで12濃度の試料を調製しました。試料をTable 1、Table 2と同様に二つに分け、それぞれ検量モデル作成用標準試料、検量モデル検証用試料として使用しました。試料の外観を図9に、その反射スペクトルを図10に示します。

標準試料を用いて単回帰法と重回帰法の検量モデルを作成し、それぞれのモデルを検証用試料を用いて検証した結果をTable 6に示します。ここでも重回帰法で良好な結果が得られました。なお、単回帰法では800 nmの一波長データを使用し、重回帰法では800 nm、980 nm、1200 nmの三波長データを使用しました。

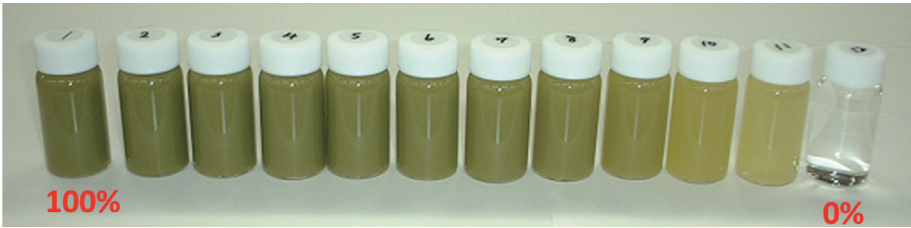


図9 青汁

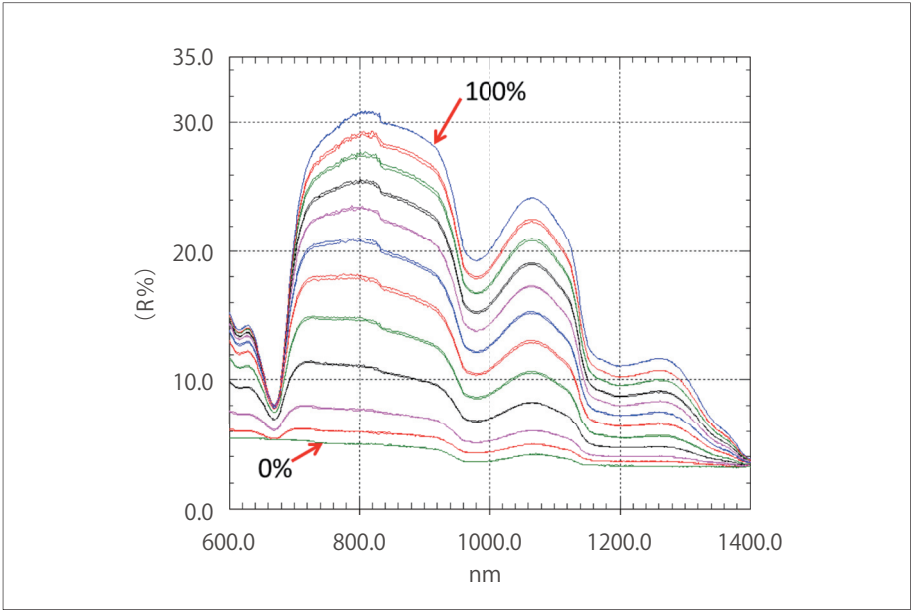


図10 青汁の反射スペクトル

Table 6 検証用試料(青汁)に対する各検量モデルの予測結果

検証用試料	真の濃度(%)	単回帰法の予測結果(%)	重回帰法の予測結果(%)
④ - 1	70	72.91	69.51
④ - 2	70	73.69	70.37
⑧ - 1	30	32.69	27.95
⑧ - 2	30	33.27	28.80
⑪ - 1	5	0.40	5.23
⑪ - 2	5	0.21	5.01
RMSEP		3.75	1.01

4. まとめ

高懸濁試料の濃度(希釈率)を簡便に測定するシステムを開発しました。反射法を用いて微細藻類ナンノクロロプシス懸濁液の定量実験を行ったところ、良好な結果が得られました。また、高懸濁試料の乳酸菌飲料と青汁に対しても同様に良好な結果が得られました。高濁度の液体試料をそのまま定量することは一般に困難ですが、本システムを用いれば簡便に定量することができます。本システムを用いることで、微細藻類研究や食品分野での様々な高懸濁試料の濃度を迅速かつ簡便に管理できると思われます。

1)ExcelはMicrosoft社の商標または登録商標です。

Q

紫外可視分光光度計でどれくらいの吸光度まで 正確に測定できますか？

A

紫外可視分光光度計は吸光度で試料の吸収の強さを示すことができます。しかしながら分光光度計の機種によって正確な測定が可能な吸光度の範囲は異なります。正確な吸光度の測定可能な範囲はその装置の迷光に大きく左右されるからです。(迷光についてはUV Talk Letter vol.2のQ&Aをご参照ください。)

吸光度1以下の場合、分光光度計の機種を問わず正確な測定が可能なので吸光度測定結果の正確さが問題になることはありません。しかしながら、試料の吸光度が2を超える場合には、正確な測定結果が得られているか分光光度計によって大きく異なります。吸光度の異なるいくつかの過マンガン酸カリウム水溶液(0~325 mg/L)を用いて525 nmの吸光度測定を行いました。横軸を真の吸光度、縦軸を見かけの吸光度(吸光度測定結果)としてプロットしました。図の黒線上にある場合、真の吸光度と吸光度測定結果が同じであることを示します。図1にはUV-1280の吸光度測定結果を、図2にはUV-2700の吸光度測定結果を示します。UV-1280では試料の吸光度が2を超えると明らかに真の吸光度より低い値を示すことがわかります。一方UV-2700では試料の吸光度が3を超える吸光度でも正確な吸光度測定結果が得られています。

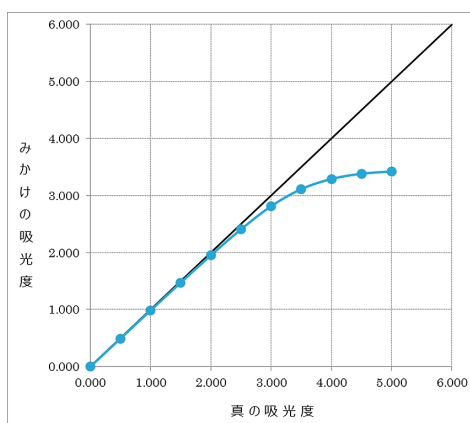


図1 UV-1280の吸光度測定結果

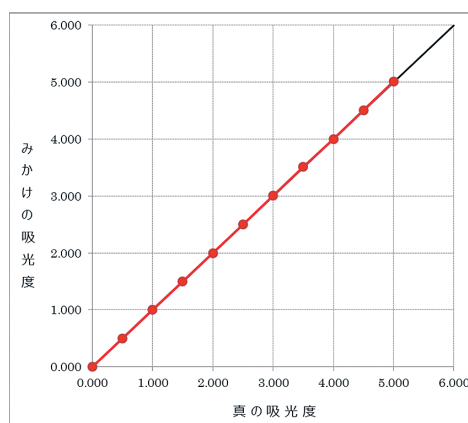


図2 UV-2700の吸光度測定結果

測定する波長、装置の迷光などにもより変わりますが、おおよその目安としてシングルモノクロメータの分光光度計では吸光度2前後、ダブルモノクロメータの分光光度計では吸光度5程度は正確な測定が可能です。