

UV

TALK LETTER

Vol. 22
October 2021



紫外可視分光光度計に用いられる光電子増倍管について …… P. 2

Applications 紫外可視分光光度計における温調付属品のご紹介 …… P. 6

Q&A フィルムの透過測定を行いました、スペクトル上に
規則正しく波打った形状が現れます。これは何でしょうか? …… P. 11

当社紫外可視分光光度計をお使いのお客様へ …… P. 12

紫外可視分光光度計に用いられる 光電子増倍管について

分析計測事業部 スペクトロビジネスユニット
島本 拓弥

紫外可視分光光度計は測定対象の試料によって必要となる波長範囲や感度性能が異なります。当社では、幅広いラインナップの製品を取りそろえ、お客様の目的に合わせた最適な装置をご提案しています。このうちミドルレンジ～ハイグレードの装置では、測定試料を高感度に測定するために、

光電子増倍管 (Photomultiplier Tube, PMT) を検出器として搭載しています。

今回は、光電子増倍管に注目し、種類ごとの特徴と性能の違いについてご紹介します。

1. 光電子増倍管 (PMT) とは

光電子増倍管 (PMT) は光電面に光が当たると光電子が放出される現象、すなわち外部光電効果を利用した検出器です。光電面から出た光電子 (一次電子) は多段に組まれたダイノード (電子増倍電極) で二次電子放出を繰り返し、元

の10倍～ 10^8 倍に増幅されて電流として出力されます (図1)。このように光を大きく増幅することができるために、例えば高吸光度の物質を通過して減衰した微弱光であっても、高感度に検出することが可能です。

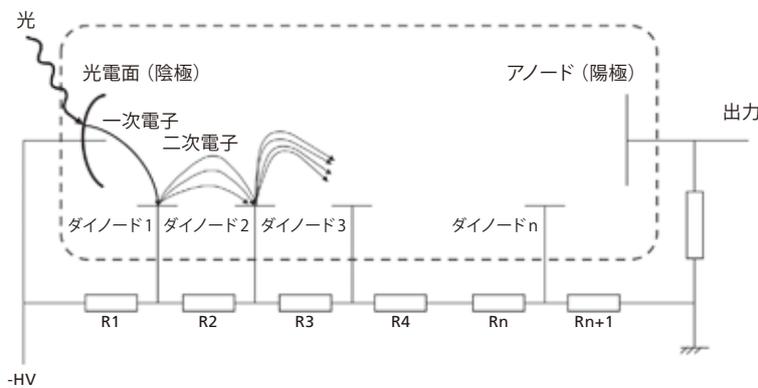


図1 PMTの原理

2021年現在、当社では以下の紫外可視分光光度計にPMTを搭載しています (図2)。



図2 PMTを搭載した当社の紫外可視分光光度計

2. PMTの種類

PMTには大きく分けてサイドオン型とヘッドオン（エンドオンとも呼ばれます）型の2種類のタイプがあります。

サイドオン型は先に述べた当社紫外可視分光光度計で標準的に用いられているPMTです（図3）。このタイプは受光面が検出器の側面にあり、高い増幅率を得やすく、コストも抑えられることが特徴です。当社紫外可視分光光度計は型名がR928（浜松ホトニクス株式会社製）という光電子増倍管を標準搭載しておりますが、お客様のご要望に合わせて、型名R5108やR13456（ともに浜松ホトニクス株式会社製、長波長タイプ）などの高感度品もオプション品または特注品としてご用意しております。



図3 サイドオン型PMT

ヘッドオン型は受光部が検出器の頭部にあるPMTです（図4）。このタイプはサイドオン型と比較して受光面が広いため、より多くの光を受けることができ、ノイズの少ない測定が可能となります。この特徴は光量のより小さな測定で有効になることから、当社においては、懸濁試料、生体試料、固体試料の透過測定専用の特注品である「エンドオンフォトマルユニット」にてこのタイプのPMTを使用しています。図5に示す通り、エンドオンフォトマルユニットは、懸濁試料等を通して拡散した光を拡散板とライトガイドを用いてヘッドオン型PMTの大きな受光面に導くことで、正確な測定を可能としています。



図4 ヘッドオン型PMT

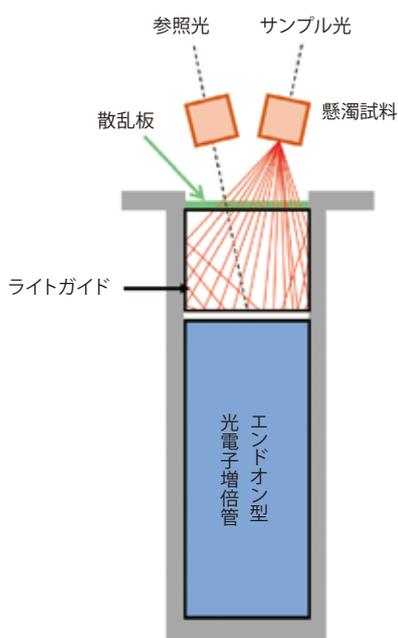


図5 エンドオンフォトマルユニット

3. タイプ毎の性能の違い

(ア) サイドオン型PMT

当社装置に標準搭載しておりますR928と、高感度品であるR13456 およびR5108のベースラインデータを図6に示します。測定に用いた装置は紫外可視分光光度計UV-2700iです。

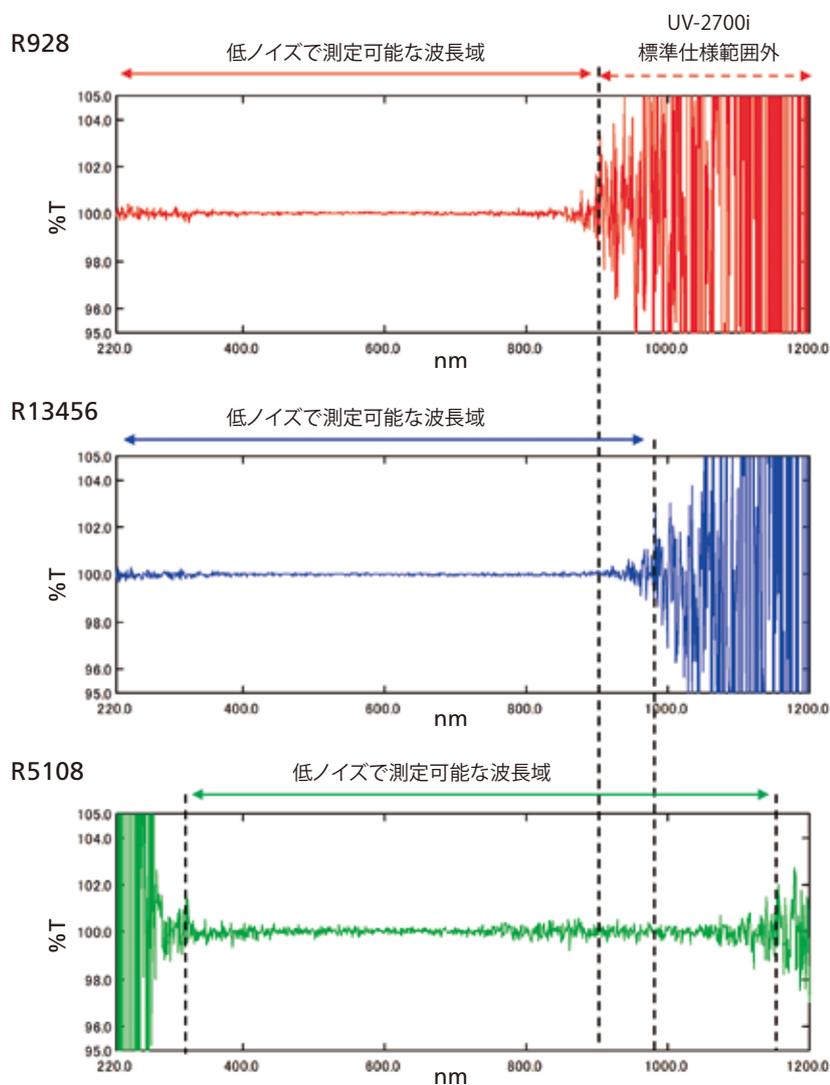


図6 サイドオン型PMT R928/R13456/R5108におけるベースラインデータ比較

R928では900 nm付近より長波長側でベースライン上に大きなノイズが見られますが、R13456では1,000 nm付近までノイズが少ないことがわかります。また、R5108を検出器に使用すると、この低ノイズ領域はさらに長波長側に広がり、1,150 nm付近までノイズが少ないことがわかります。測定対象物の目的ピーク位置に応じた、最適な検出器を選択ください。

上記では型名の異なるサイドオン型PMT毎に、得意な波長域があることをご紹介しましたが、一方で不得意な波長域も存在します。表1には、型名の異なるサイドオン型PMTについて、様々な波長でノイズレベル (RMS法) を測定した結果を示します。青字はその波長で最もノイズの小さな数値を表し、赤字はその波長で最もノイズの大きな数値を表します。

表1 特定波長における型名の異なったサイドオン型PMTのノイズレベル比較

単位 (Abs)	300 nm	500 nm	700 nm	900 nm	1100 nm
	RMS	RMS	RMS	RMS	RMS
R928	0.00006	0.00002	0.00004	0.00079	0.02674
R13456	0.00008	0.00002	0.00002	0.00007	0.00844
R5108	0.00238	0.00009	0.00006	0.00083	0.00113

青字：その波長で最もノイズの小さな数値

赤字：その波長で最もノイズの大きな数値

R5108は長波長である1,100 nmで最もノイズが少ないことがわかりますが、R928およびR13456と比較してその他の波長でノイズが大きいことがわかります。このように、感度の波長特性はPMTの型名によって異なるため、使用目的に応じて最適な型を選択する必要があります。

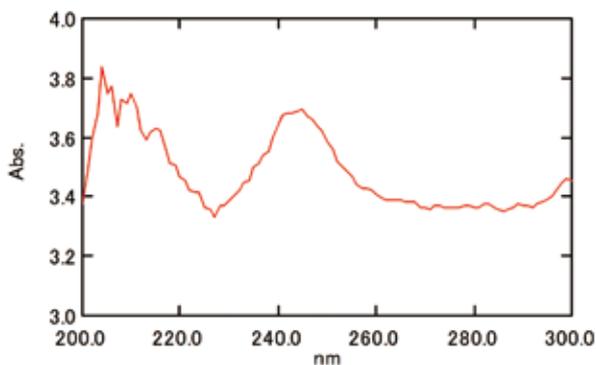
(イ) ヘッドオン型PMT

懸濁試料の測定では、測定に用いる光が試料中の粒子によって拡散されることにより、検出器に到達する光が非常に少なくなります。そのため、通常の紫外可視分光光度計では散乱光を検出できず、吸光度を正しく測定することができません。このような試料の吸光度を正しく測定する方法として、当社ではサイドオン型PMTである積分球付属装置とヘッドオン型PMTであるエンドオンフォトマルユニット（特注品）

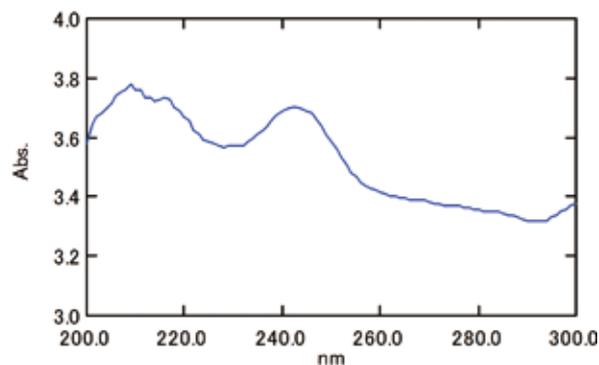
をご用意しております。

積分球付属装置 MPC-2600A とエンドオンフォトマルユニットの吸光度測定結果の比較を図7に示します。測定に用いた装置は紫外可視分光光度計 UV-2600i です。懸濁試料として、15倍に希釈した市販されている牛乳を用意し、10 mm 石英セルで測定を行いました。

積分球付属装置は懸濁試料の測定に強みをもつオプション品ではありますが、今回用意したような非常に吸光度の高い懸濁試料の場合、スペクトル上にノイズが重畳されることは避けられません（図7の左図）。これに対して、エンドオンフォトマルユニットは検出面が非常に大きいため、微弱な測定光であっても感度よく検出することができ、積分球付属装置を用いた場合に比べてノイズの少ない測定が可能であることがわかります（図7の右図）。



積分球付属装置 MPC-2600A



エンドオンフォトマルユニット

図7 積分球付属装置とエンドオンフォトマルユニットを用いた吸光度測定結果の比較

4. むすび

今回は、紫外可視分光光度計の検出器である光電子増倍管に注目し、その種類と性能の違いについてご紹介しました。標準の検出器では困難な測定であっても、最適なオプション品を用いて性能を拡張することで、測定の正確さを向

上できる可能性があります。日常の測定でお困りのことがございましたら、お気軽に当社営業員までご連絡いただければと思います。

Applications

紫外可視分光光度計における 温調付属品のご紹介

分析計測事業部 グローバルアプリケーション開発センター
後東 あかり

紫外可視分光光度計で使用される付属品には様々なものがありますが、温度によってスペクトル形状や吸光度に変化がみられるような試料を測定する場合や、医薬品における溶出試験のように、一定の温度条件下で測定する場合には、温調機能付きの付属品を用いて測定を行います。

本稿では、恒温測定で使用する温調付属品および昇温・降温プログラム制御が可能な温調付属品のご紹介に代わって、当社から販売しております電子冷熱式単一セルホルダ S-1700を用いた、温度により色が変化するインクおよび液晶を測定した分析例をご紹介します。

1. 恒温測定で使用する温調付属品

恒温測定で使用する温調付属品は、生体成分の測定や酵素活性の測定、反応速度の解析など、試料温度を一定に保って測定する目的で使用されますが、大別すると恒温水を環流して温度を制御する付属品とペルチェ素子を用いた電子冷熱式付属品（電子冷熱式の場合には外部恒温水槽、および冷却

用の水の循環は不要）があります。当社では恒温水循環タイプの付属品として恒温セルホルダ（図1）、電子冷熱式付属品として6連装電子冷熱式セルポジション CPS-100 / 100F（図2）や電子冷熱式恒温セルホルダ TCC-100（図3）をご用意しております。



図1 恒温セルホルダ



図2 6連装電子冷熱式セルポジション
CPS-100 / 100F



図3 電子冷熱式恒温セルホルダ
TCC-100

表1には、前述した3種類の温調付属品における仕様を示します。

表1 恒温測定で使用する温調付属品

	恒温セルホルダ	6連装電子冷熱式セルポジション CPS-100 / 100F	電子冷熱式恒温セルホルダ TCC-100
セル数	試料側：1個 対照側：1個	試料側：6個（温調あり） 対照側：1個（温調なし）	試料側：1個（温調あり） 対照側：1個（温調あり）
温度制御範囲	5～90℃ （使用する恒温装置でも制限される）	16～60℃	7～60℃
恒温水環流装置	要	不要	不要

各々の温調付属品に関する特長を以下に示します。

恒温セルホルダ

10 mm角形セルを試料側、対照側それぞれ1個セットすることができます。より多くの角形セルをセットしたい場合には、試料側4個、対照側1個の角形セルを設置可能な恒温4連装セルホルダもご用意しております。なお、恒温セルホルダおよび恒温4連装セルホルダでは、ご使用中の恒温水還流装置を流用することが可能です。

6連装電子冷熱式セルポジション CPS-100 / CPS-100F

10 mm角形セルを試料側6個、対照側1個セットできる

付属品です。酵素活性を測定する場合に有効です。溶出試験用途としては、試料側に6個のフローセルを取り付け可能なCPS-100Fをご用意しております。なお、溶出試験器は様々なメーカーから販売されておりますが、島津紫外可視分光光度計との接続可否につきましては、お問い合わせください。

電子冷熱式恒温セルホルダ TCC-100

CPS-100 / 100Fと同様の電子冷熱式付属品です。セットできるセルは試料側、対照側それぞれ1個となりますが、CPS-100 / 100Fよりも低温での測定が可能です。

2. 昇温・降温プログラム制御が可能な温調付属品

昇温・降温プログラム制御が可能な温調付属品は、前述した通り、温度によってスペクトル形状や吸光度に変化がみられるような試料を測定する場合に有効な付属品です。例えば、治療が困難である遺伝性疾患の革新的治療薬として期待される核酸医薬品開発では医薬品の融解温度 (T_m) を調べる必要がありますが、融解温度は試料によって異なるために温度を変えながら測定する必要があります。ここでご紹介

する昇温・降温プログラム制御が可能な温調付属品は、このような核酸医薬品開発にも効果を発揮する付属品です。当社ではセル温度の昇温・降温プログラム制御が可能なタイプの温調付属品として、電子冷熱式単一セルホルダ S-1700 (図4) やT_m解析システム TMSPC-8 (図5) をご用意しております。



図4 電子冷熱式単一セルホルダ S-1700



図5 T_m解析システム TMSPC-8

表2には、前述した2種類の温調付属品における仕様を示します。

表2 昇温・降温プログラム制御が可能な温調付属品

	電子冷熱式単一セルホルダ S-1700	T _m 解析システム TMSPC-8
セル数	試料側：1個 (温調あり) 対照側：1個 (温調なし)	試料側：8連マルチセル 対照側：なし
温度制御範囲	0 ~ 110℃	0 ~ 110℃
冷却水	要	要

各々の温調付属品に関する特長を以下に示します。

電子冷熱式単一セルホルダ S-1700

スターラ付きですのでセル内温度分布を均一に保持した測定が可能です。また昇温および降温速度を12段階で変えることができるため、高速および低速加熱もしくは冷却しながら測定することもできます。

Tm解析システム TMSPC-8

核酸医薬品分析に特化したシステムです。8連電子冷熱式セルホルダ、温度コントローラ、Tm解析ソフトウェアから構成

されており、同時に最大8検体の測定が可能です。Tm解析ソフトウェアでは、温度と吸光度曲線データから、DNAやRNAなどの核酸におけるTm値を簡便に解析できます。

なお、上記2種類の温調付属品はペルチェ素子によって温度をコントロールしておりますので、素子性能を保つために冷却水を流す必要があります。水道水も使用できますが、より広域な温度制御のためには恒温水環流装置の使用を推奨します。また、10℃以下の温度における測定では、セル表面の結露防止のため、窒素ガスを使用してセルホルダをパージする必要があります。

3. 電子冷熱式単一セルホルダ S-1700 によるインクや液晶の分析例

今回、温度により色が変わる性質をもつ2種類の試料を準備し、S-1700によりセル温度を変化させてスペクトル測定を行いました。

図6には、蒸留水により400倍希釈した示温インク（約40℃で青色から浅紅色に変色）、図7には加熱・冷却によってらせん構造の幅が変化し、この結果として反射する光の波長

が変化するコレステリック液晶の変色の様子を示します（一般的に低温では青紫色、温度上昇にともなって緑色やオレンジ色などを含んだ虹色に変色するとされています）。また、測定および温調条件を表3および表4に、温度プログラムのパターン図を図8に示します。

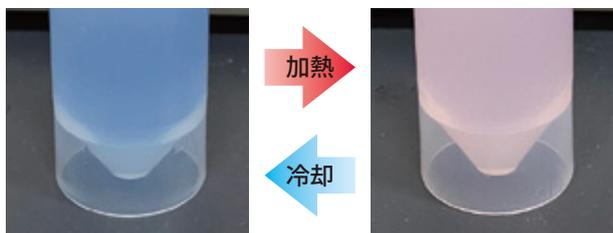


図6 温度による示温インクの変色の様子
(左図: 25℃ 右図: 40℃)

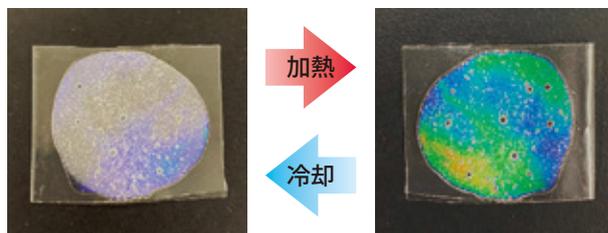


図7 温度によるコレステリック液晶の変色の様子
(左図: 5℃ 右図: 25℃)

表3 測定条件

装置	UV-1900i
測定波長範囲	350 - 900 nm
データ間隔	1.0 nm
スキャン速度	高速
スリット幅	1 nm
繰り返し回数	15回 (インク)、7回 (液晶)
繰り返し間隔	180秒

表4 温調条件

試料	示温インク	コレステリック液晶
装置	電子冷熱式単一セルホルダS-1700	
開始温度	30.0℃	5.0℃
開始温度保持時間	60秒	
温度速度	1.0℃/分	5.0℃/分
測定前待機時間	120秒	
繰り返し	14回	6回

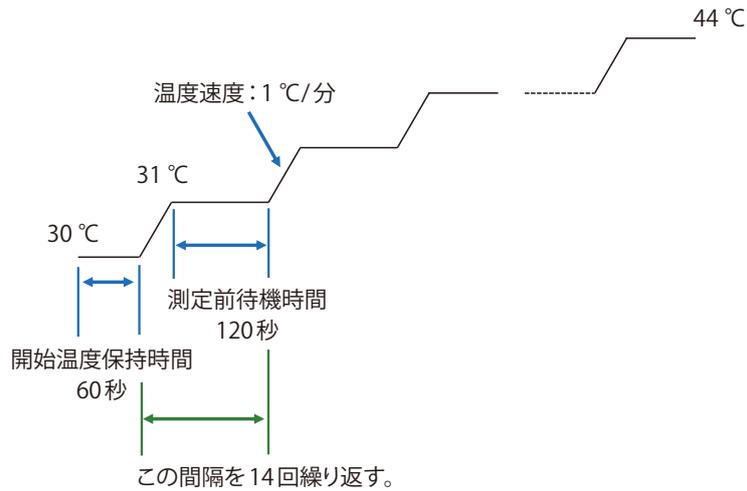


図8 温度プログラムのパターン図

3-1. 示温インクの分析例

各温度における示温インクの吸収スペクトルを図9に示します。

図9を見ると、600～900 nmの波長領域において、35℃以下ではスペクトルの変化は見られません。しかし36～37℃では吸光度値が急激に下がり、38℃より高温においても徐々に吸光度値が低下することがわかりました。

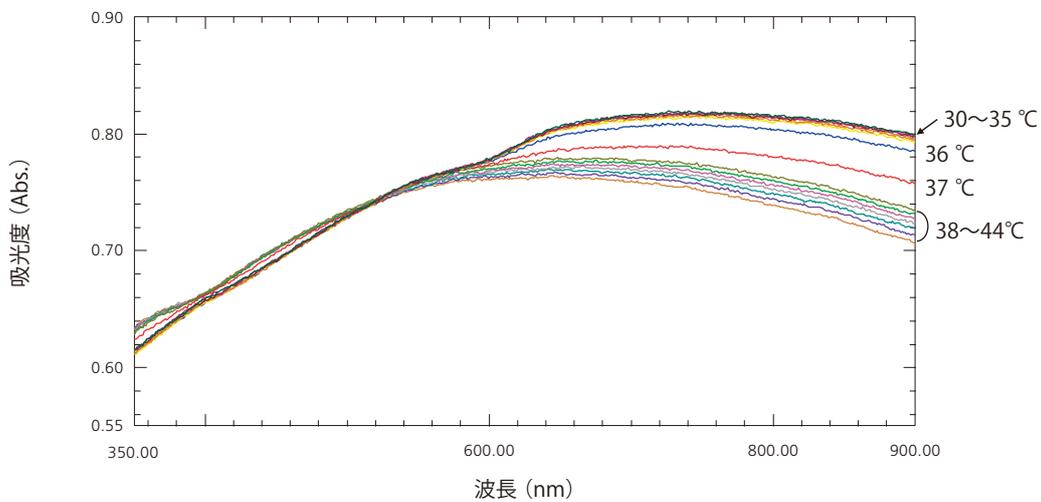


図9 各温度における示温インクの吸収スペクトル

3-2. コレステリック液晶の分析例

感温シートなどに使われている「コレステリック型」の液晶を測定しました。なお、試料形態がペースト状であり、そのままでは測定ができないため、プラスチックフィルムに挟み、図10に示すセル型試料ホルダに保持した状態で測定を行いました。電子冷熱式単一セルホルダ S-1700は液体の温調測定用付属品ですが、セル型試料ホルダと組み合わせて使用

することにより、液体だけでなくペースト状やフィルム状の試料における温調測定も可能となります。

測定および温調条件を表3および表4に示します。測定は5℃から35℃まで、5℃刻みで行いました（5℃および10℃における測定では、セル表面の結露防止のため試料室に窒素ガスをパージしました）。



図10 セル型試料ホルダ

コレステリック液晶の透過スペクトルを図11に示します。前述した通り、コレステリック液晶は温度によって反射する光の波長が変化することによって色が変化するため、縦軸は透過率に設定しました。

図11より、温度が上昇すると徐々に透過域が長波長側にシフトしました。今回は加熱に伴い、反射する光の波長域が短波長側にシフトし^[1]、結果として透過スペクトルにおける透過域が長波長側にシフトしたと考えられます。

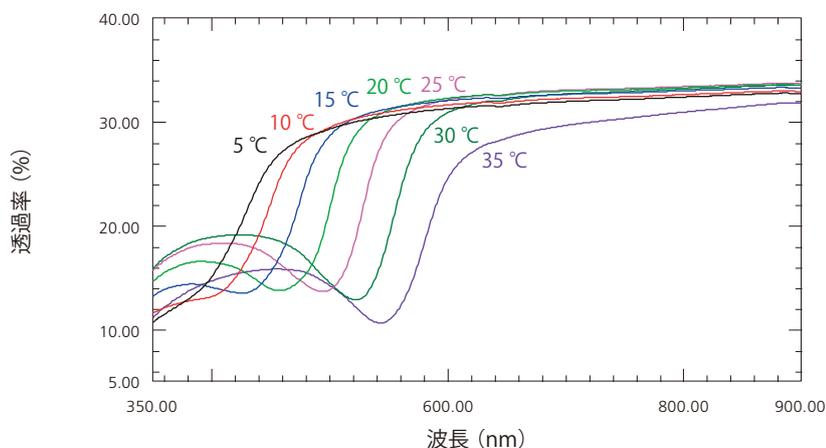


図11 各温度におけるコレステリック液晶の透過スペクトル

4. まとめ

今回、紫外可視分光光度計で使用される各種温調付属品をご紹介しました。本稿を参考に、測定目的に応じた最適な付属品を選択いただければ幸いです。

参考文献

[1] 杉本浩之「中分子コレステリック液晶系フルカラー可逆記録材料の感熱記録特性」Ricoh(2000)

Q&A

フィルムの透過測定を行いました、スペクトル上に規則正しく波打った形状が現れます。これは何でしょうか？

2つの光が干渉することによって生じた干渉波形です。この波形が生じる仕組みを図1に示します。

フィルムの透過測定では、内部で折り返した光（図1の赤線、内部反射光とも呼ばれます）が再度透過方向へ伝播する際に、フィルムを透過した光（図1の黒線）と干渉します。

同じような現象は反射測定でも起こる場合があります。基板上にコーティングされた試料の反射測定では、試料表面で反射した光（図2の黒線）と、試料を透過した後に基板上で反射した光（図2の赤線）が干渉します。

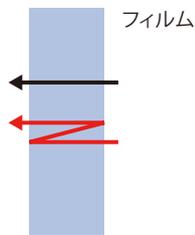


図1 フィルムの透過測定における光の干渉

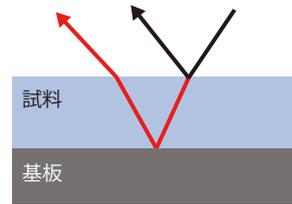


図2 基板上にコーティングされた試料の反射測定における光の干渉

この干渉を低減したい場合には、試料を斜めに設置したり、試料表面に凹凸を付けるなどがありますが、光路長が変わったり乱反射成分が増えるなど、取得するスペクトルの縦軸値に影響を及ぼすため、注意が必要です。縦軸値に影響を与えず、干渉波形を軽減したい場合には、測定するスリット幅を変更することをお勧めします。

図3には異なるスリット幅で測定した、食品用ラップの透過スペクトルを示します（挿入図は350～500 nmの拡大図）。

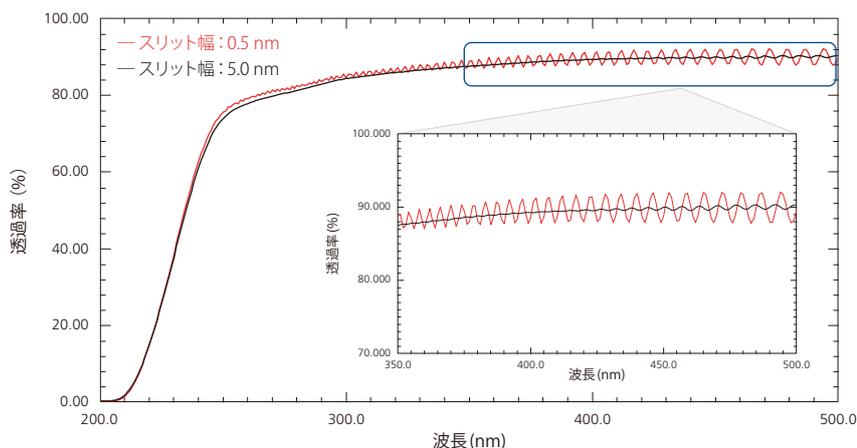


図3 食品用ラップの透過スペクトル

スリット幅0.5 nmでは大きな干渉波形が見られますが、スリット幅を広げることで、スムージング効果により干渉波形が軽減されていることがわかります。なお、この干渉波形を利用することで、食品用ラップの厚みを計算することができます。詳しくはアプリケーションニュースNo.A614をご参照ください。

— 当社紫外可視分光光度計をお使いのお客様へ —

UV-1600/1650/1700 UV-2400/2500シリーズ 補修部品の供給は終了しました

島津製作所分光光度計を長きにわたりご愛用頂きまして有難う御座います。

UV-1600(PC)/1650/1700およびUV-2400/2450/2500/2550の製造中止後も補修部品の供給継続につきましては日々努力してまいりましたが、補修部品の供給が困難となりました。修理が不可能な状況が発生し、お客様の分析業務に多大な影響を与える恐れがございます。新しい紫外可視分光光度計への更新をご検討ください。

最新機種への更新をご検討ください！



UV-1900i



UV-2600i/2700i



UV-1600



UV-1650



UV-1700



UV-2400/2450/2500/2550

長きにわたり当社紫外可視分光光度計をご愛用頂きましたお客様に

最新機種に更新された場合のメリットをご紹介します！

また、安心と安全をお届けする様々な保守契約プランもご用意しております。

詳細は当社支店・営業所までご相談ください。



本文書に記載されている会社名、製品名、サービスマークおよびロゴは、各社の商標および登録商標です。
なお、本文中では「TM」、「®」を明記していない場合があります。

UV
TALK LETTER

Vol. 22
October 2021

発行日 ● 2021年10月14日
編集・発行 ● 株式会社島津製作所 分析計測事業部 グローバルアプリケーション開発センター
連絡先 ● 分析計測事業部事業企画部“Shim-Solutions Club”事務局
〒604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1
E-mail: analytic@group.shimadzu.co.jp