

# UV TALK LETTER



Vol.2

2008.SUMMER

## UV TALK LETTER 分光光度計の構造

### 1. 分光光度計の測定原理

分光光度計の基本的な測定原理は、比較的簡単で理解しやすいものです。固体試料と溶液試料の場合に分けて説明します。

#### (1) 固体試料

図1に示すように、まず、試料を置かない状態で、測定光束の強度 $I_0$ を測定します。次に測定光束上に試料を置いて、試料を透過した光束の強度 $I_t$ を測定します。透過度 $T$ は(1)式で表されます。

$$T = \frac{I_t}{I_0} \quad (1)$$

透過度 $T$ に100を掛けたものは、透過率(%T)となります。

#### (2) 溶液試料

図2に示すように、溶媒を入れたセルを測定光束上に置いて、セルを透過した光束の強度 $I_0$ を測定します。次に、試料を溶媒に溶かした溶液を入れたセルを測定光束上に置いて、セルを透過した光束の強度 $I_t$ を測定します。透過度 $T$ は、同様に(1)式で与えられますが、溶液試料の場合は、(2)式で与えられる吸光度 $Abs$ を使うのが一般的です。

$$Abs = \text{Log}_{10} \frac{1}{T} \quad (2)$$

吸光度 $Abs$ と試料濃度 $C$ との関係を表す(3)式をランベルト・ベールの法則といいます。

吸光度と濃度が比例の関係となっており、定量分析の基本となっています。

$$Abs = \epsilon CL \quad (3)$$

ここで、 $\epsilon$ は試料の吸光係数、 $L$ はセルの光路長です。

図2に示す測定方式は、セル界面からの反射や溶媒の吸収の影響を無くし、試料による吸収が測定されるようになっています。

図1、図2の測定光は、通常は単色光と呼ばれるものです。単色光とは、単一の波長の光のことです。単一といっても、スペクトルバンド幅(スリット幅)と呼ばれるある幅をもっています。例えば、波長500nm、スペクトルバンド幅2nmの単色光とは、499nm~501nmの間の波長幅(半値幅)の光を含んでいる光ということになります。単色光は光源から出た光を分光器に通すことにより得られます。

### 2. 分光光度計の構成

前項の原理の説明から、分光光度計に必要な構成要素は、図3に示すように、光源、分光器、試料室、検出器であることがわかります。前項では試料に当てる光は単色光と説明しましたが、試料に白色光を当て、試料を透過した後に分光器を通すタイプの装置も存在します。試料の前に分光器がある方式を前分光、試料の後に分光器がある方式を後分光といいます。後分光方式は、アレイ検出器を使った高速測光型の装置等に採用されています。

次項からは、各構成要素について説明します。

### 3. 光源

分光光度計の光源として望ましい条件を以下に示します。

- a) 広い波長範囲に渡って明るいこと。
- b) 時間的に安定していること。
- c) 寿命が長いこと。
- d) 安価であること。

これらの条件全てを完全に満たすものはありませんが、現在最もよく使用されているのは、可視・近赤外域用のハロゲンランプと紫外域用の重水素ランプです。この両ランプ以外では、キセノンフラッシュランプが使われることがあります。

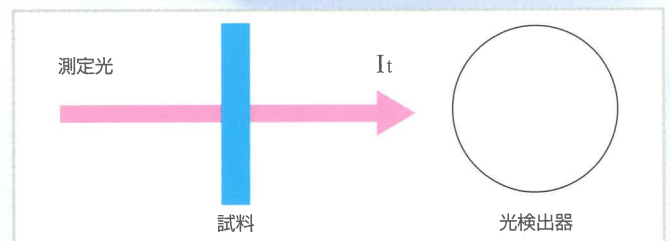
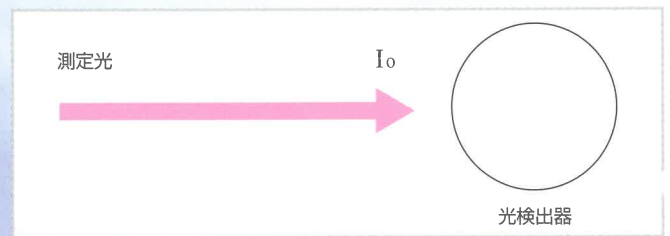


図1 固体試料の測定原理

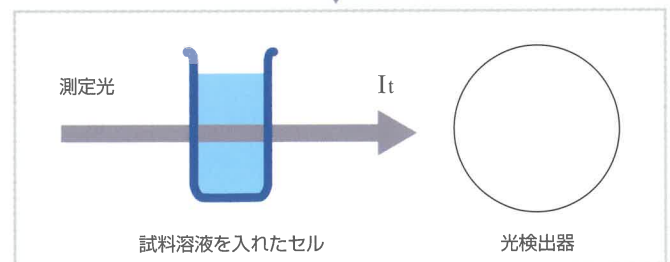
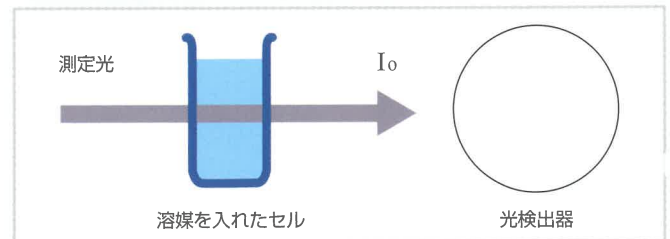


図2 溶液試料の測定原理

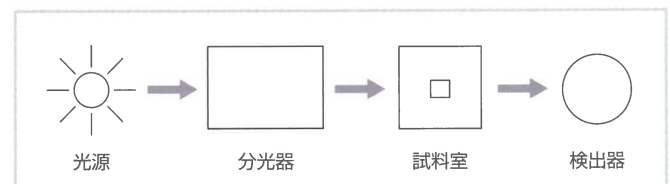


図3 分光光度計の構成

**(1)ハロゲンランプ**

発光原理は、一般の白熱電球と同じです。フィラメントに電流を流すことにより、フィラメントが高温となり発光します。ハロゲンランプは、電球バルブの中に不活性ガスとともに微量のハロゲン化物を封入したものです。フィラメントとして使われているタングステンは、高温により蒸発しますが、ハロゲン化物は蒸発したタングステンをフィラメントに戻す働きがあります。これにより、明るくかつ寿命の長い光源を実現しています。ハロゲンランプの分光強度分布は、プランクの放射法則から、近似的に求めることができます。図4に、温度が3000Kのときの分光強度分布を示します。ハロゲンランプは、時間的安定性に優れ、寿命は2000時間程度、価格も比較的安価です。ハロゲンランプは、上記a)~d)の条件を高いレベルで満たしている光源といえます。

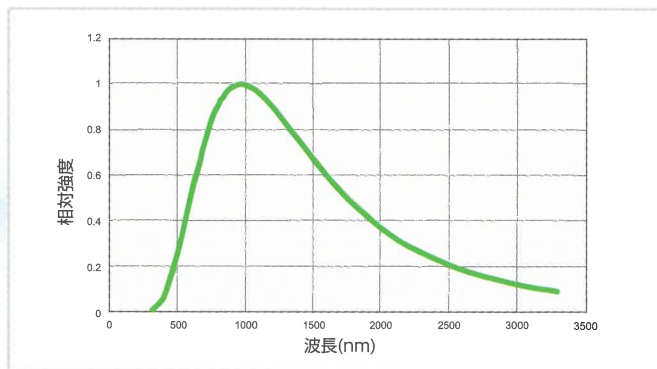


図4 ハロゲンランプの発光強度分布 (3000K)

**(2)重水素ランプ**

重水素ランプは、数百Paの重水素 (D<sub>2</sub>) をバルブに封入した放電光源です。図5に重水素ランプの分光強度分布を示します。一般的には、長波長側は400nmあたりが使用限界となりますが、長波長へ向かう減衰がゆるやかであるため、400nm以上の光を利用することも可能です。400nm以上の範囲には、輝線スペクトルも多数存在しています。その中でも、486.0nmと656.1nmの輝線スペクトルは特に強く、分光光度計の波長校正に利用することができます。短波長側の使用限界は、窓材の透過率により決まります。図5では、窓材に合成石英とUVガラスを使用した例を示しています。

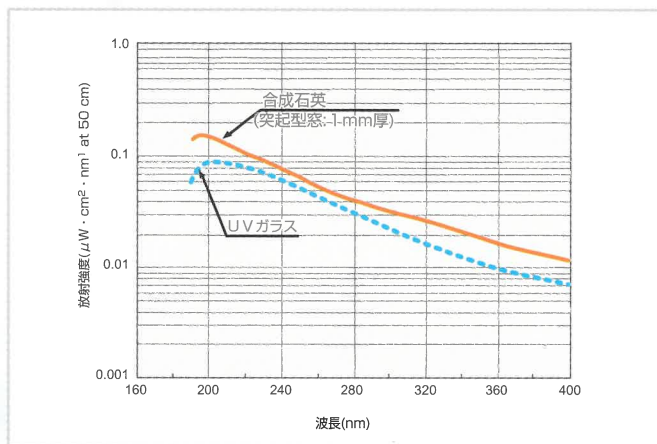


図5 重水素ランプの発光強度分布<sup>1)</sup>

**4.分光器**

「分光」とは、様々な波長を含む光を、波長に応じて分けることを意味します。この光を分ける素子を分散素子といい、その代表的なものはプリズムと回折格子 (グレーティング) です。分光器の分散素子としては、昔はプリズムがよく使用されていましたが、最近は回折格子が主流となっています。分光光度計によく使われている回折格子は、1mm当り数百~2千本程度の溝を平行かつ等間隔に引いたもので、その断面形状の例を図6に示します。この回折格子に白色光を当てると、光の干渉により白色光は溝方向と垂直の方向に分散され、ある波長の光は特定の方向にのみ反射します。その様子を図7に示します。λ<sub>1</sub>~λ<sub>3</sub>は波長を示し、波長は連続的に変化していますので、回折格子に白色光を当てると、回折格子は虹色に見えます。CDの読み取り面に光を当てると、虹色に輝いて見える現象は、回折格子による分光のしくみと同じです。

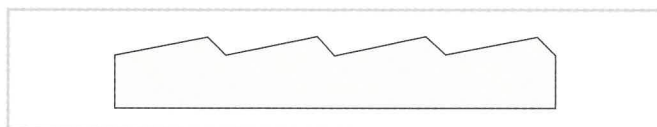


図6 回折格子の断面

分光器は、入口スリット、出口スリット、回折格子及びそれらに付随するミラー等から構成されます。各素子の配置により、いろいろな分光器が考案されていますが、もっとも簡単な構成である凹面回折格子を使った分光器の例を図8に示します。凹面回折格子を回転させることにより、出口スリットからは、異なる波長の光が射出されます。

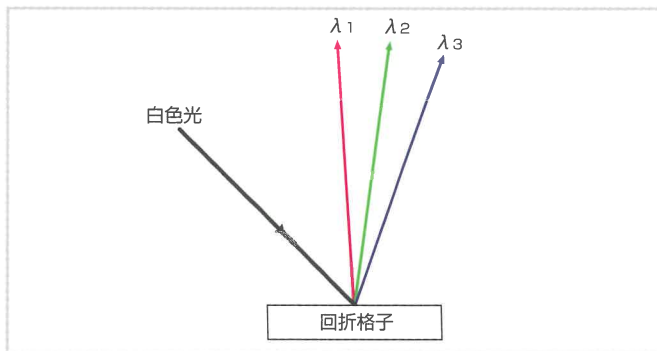


図7 回折格子による光の分散

**5.試料室**

一般的な試料室の例を図9に示します。試料室中に2本の光束 (図9の赤い矢印) が走っており、ダブルビーム分光光度計の試料室であることがわかります。分光器を出た単色光は、2本の光束に分割され試料室に入ります。ダブルビーム分光光度計に対して、試料室中に1本だけ光束が走っているものは、シングルビームの分光光度計となります。シングルビームとダブルビームの違いについては、前号のUV TALK LETTERのQ&Aに説明がありますので、参考にしてください。

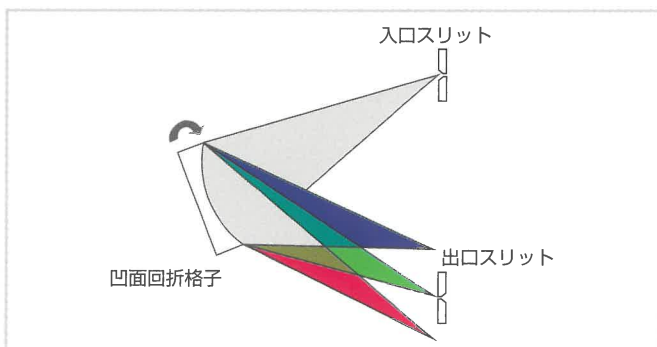


図8 凹面回折格子分光器の模式図

図9に示しますように、試料室の中には、光路長10mmの角セルが設置されるセルホルダがあるのが標準的です。このセルホルダ部の交換、あるいは試料室ごと交換という形で、各種付属装置が取り付けられます。後述の検出器として光電子増倍管を使用している中級機以上の分光光度計では、大きな試料、あるいは大きな付属装置を取り付けるための大形試料室を用意しているものがあります。

## 6. 検出器

試料室を通過した光束は最後の構成要素である検出器に入ります。分光光度計用として紫外可視域にて用いられる代表的な検出器は、光電子増倍管(フォトマルチプライヤー)とシリコンフォトダイオードです。近赤外域用としては、専らPbS光導電素子が使用されてきましたが、最近ではInGaAsフォトダイオードを採用している装置が販売されています。高速測光型の装置に使われるアレイ検出器としては、シリコンフォトダイオードアレイ検出器があり、後分光方式と組み合わせて使用されています。

以下に、光電子増倍管とシリコンフォトダイオードについて説明します。

### (1) 光電子増倍管

光電子増倍管は、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は多段に組み込まれたダイノード(電子増倍部)で二次電子放出を繰返し、最終的に少ない光量で大きな出力が得られるため、光電子増倍管の最大の特長は、他の光センサーでは得られない際立った高感度にあります。光量が十分ある場合には、この特長はあまり生かされませんが、光量が減るに従い光電子増倍管の特長が生きてきます。このため、光電子増倍管は、高いグレードの装置に使われています。光電子増倍管の分光感度特性は、主として光電面の材料により決まります。分光光度計に良く使われているマルチアルカリ光電面の分光感度特性の例を図10に示します。

### (2) シリコンフォトダイオード

シリコンフォトダイオードは、光が当ることにより検出器自体の電気的性質が変化する現象、すなわち内部光電効果を利用した検出器です。昨今注目を集めている太陽電池も基本的な構造・原理はシリコンフォトダイオードと同じです。シリコンフォトダイオードは、光電子増倍管と比較して、安価、受光面における感度のローカリティが少ない、特別な電源を必要としない等の長所を持っています。感度面においても、光量が比較的大きい場合には、光電子増倍管と比べても遜色の無い測光データが得られます。シリコンフォトダイオードの分光感度特性の例を図11に示します。

## 7. おわりに

今回は、紫外可視分光光度計の構造について概説しました。紙面の都合もあり、基本的な内容に止めさせていただきました。次回からは、テーマを絞って、より詳細な解説をしていく予定です。ご愛読いただきますよう、よろしくお願いいたします。

- 1) 浜松ホトニクス株式会社重水素ランプカタログ
- 2) 浜松ホトニクス株式会社光電子増倍管カタログ
- 3) 浜松ホトニクス株式会社フォトダイオードカタログ

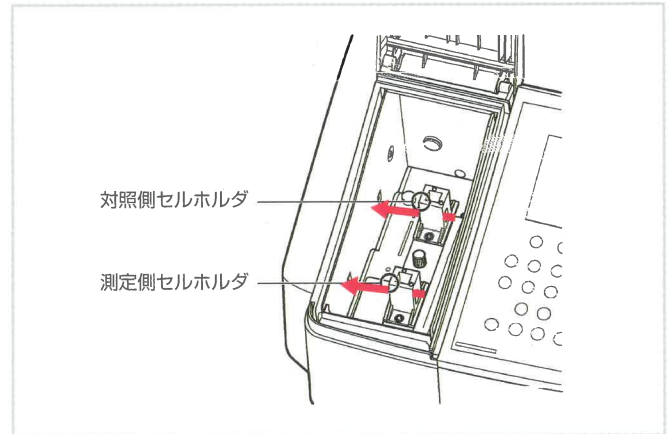


図9 試料室

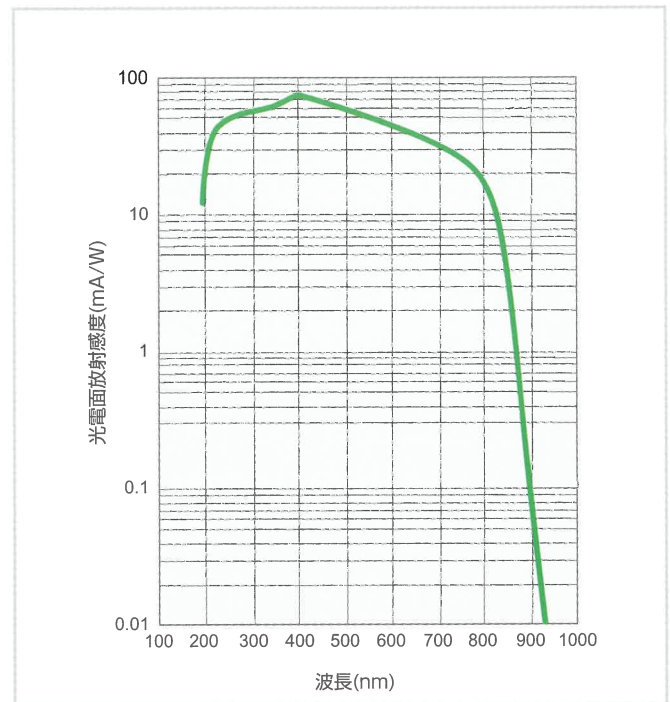


図10 光電子増倍管の分光感度特性<sup>2)</sup>

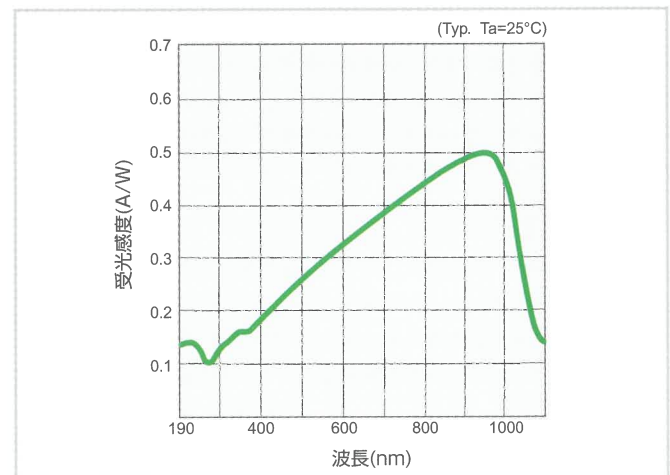


図11 シリコンフォトダイオードの分光感度特性<sup>3)</sup>

# 紫外可視吸収と有機化合物の構造との関係

染料や色素などに代表されるように有機化合物には着色したものが多く存在します。これらの色はといったどのようにして生じるのでしょうか。色と有機化合物の構造との間には密接な関係があります。ここでは当社の紫外可視分光光度計UV-2550を用いて測定した有機化合物の吸収スペクトルを基にしてその関係を説明します。

## 1. 共役二重結合系と吸収ピークの関係

有機化合物には二重結合が一つおきに連なった共役二重結合（以下“共役系”とします）を持ったものが多く存在します。この共役系がピーク波長と吸収強度に大きな係わり合いを持っています。

図1にベンゼン、ナフタレン、アントラセンの構造を、図2にそれらをエタノールに溶かして測定した吸収スペクトルを示します。図2は各成分の吸収強度がほぼ同じになるように濃度を調整して測定しました。図2から共役系が大きくなるほどピーク波長は長波長側にシフトすることがわかります。表1<sup>1)</sup>に種々の有機化合物のピーク波長とモル吸光係数を示しました。モル吸光係数は物質が光を吸収する割合を示す指標で値が大きいほど強い吸収となりますが、共役系が大きくなると吸収ピーク波長が長波長側にシフトすると共に吸収ピークも大きくなるのがわかります。

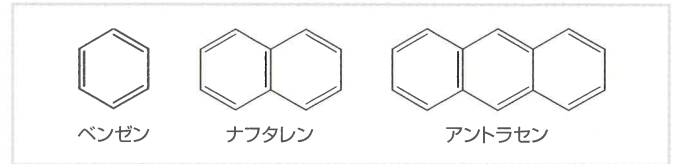


図1 ベンゼン、ナフタレン、アントラセンの構造

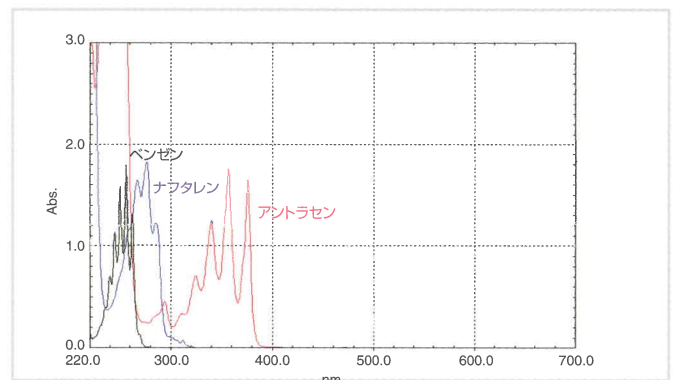


図2 ベンゼン、ナフタレン、アントラセンの吸収スペクトル

物質	吸収ピーク	モル吸光係数
エチレンCH <sub>2</sub> =CH <sub>2</sub>	180nm	10000
1,3-ブタジエン	217nm	21000
ビタミンA	328nm	51000
β-カロチン	450nm	140000
ベンゼン	255nm	180
ナフタレン	286nm	360
アントラセン	375nm	7100
ナフタセン	477nm	11000

表1 種々の有機物質の吸収ピークとモル吸光係数<sup>1)</sup>

## 2. 共役系が大きい食用色素の吸収スペクトル

図3に食用色素の赤色102号と青色1号の構造を、図4に赤色102号と青色1号の吸収スペクトルを示します。食用色素は一般に図3のような大きな共役系を持っているためにピーク波長は大きく長波長側にシフトし、可視域(400nm~700nm)にピークが現れるために色として認識されます。

ところで、我々が見る色は物質に吸収されなかった残りの色(補色または余色と言う)です。赤色102号は図3に示すように450nm~550nmの青、緑色系統の光を吸収するので、補色の赤色が目に入ります。青色1号は560nm~650nmの黄色系統の光を吸収するために青色として目に映ることになります。

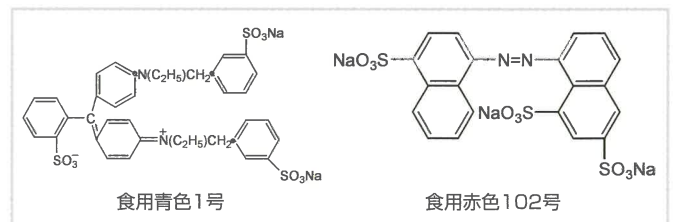


図3 赤色102号と青色1号の構造

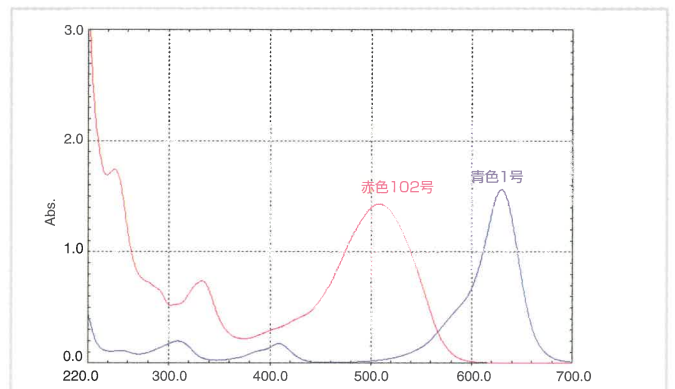


図4 食用色素の赤色102号と青色1号の吸収スペクトル

1) 中原 勝儼:「色の科学」、培風館(2002年)、p.108

## 3. 官能基の影響

官能基によっても吸収ピークは影響を受けます。ベンゼン、ベンゼン環に-OH基が付いたフェノール、ベンゼン環に-OH基と-NO<sub>2</sub>基が付いたp-ニトロフェノールの吸収スペクトルを図5に示します。官能基が共役系に影響を与えるために吸収ピークがベンゼンよりも長波長側に現れますが、400nm以上の可視域まではシフトせず、有機化合物の色は共役系の大きさの方が大きな影響を及ぼしています。

4. 分子骨格は大きい共役系が小さい化合物の吸収スペクトル  
医薬品として用いられるプレドニゾンとベンゼンの吸収スペクトルを図7に示します。

図8に示すようにプレドニゾンは大きな分子骨格を持ちますが、共役系が小さいためピーク波長は長波長側に大きくシフトせず、ベンゼンとほぼ同じ位置に現れています。

## 5. 長波長側にシフトする理由

分子構造と吸収スペクトルとの関係を示してきました。共役系が大きくなるとなぜピーク波長は長波長側にシフトするのでしょうか。光のエネルギーと電子の運動との関係で考えてみましょう。

光は波と粒子(光子)の二つの性質を持ち、1個の光子のもつエネルギーは $hc/\lambda$ で表されます。ここで、 $h$ はプランク定数、 $c$ は光速、 $\lambda$ は波長です。

紫外可視域の吸収は電子の遷移に関係しています。電子の遷移とは電子の運動状態が別の運動状態へと変わることです。共役系の $\pi$ 電子は分子の骨格を形づくっている $\sigma$ 結合の電子より運動状態が変化しやすい性質をもっています。このような $\pi$ 電子に光子が衝突するとその運動状態は簡単に別の運動状態に変えられてしまいます。エネルギーの小さい光子でも、 $\pi$ 電子ならば比較的簡単に運動状態を変えてくれるのです。共役系が大きくなればなるほど $\pi$ 電子は小さなエネルギーの光子の影響を受けやすくなります。遷移は光子のエネルギーが電子に吸収されたことを表しています。光子のエネルギーが小さいということは $hc/\lambda$ が小さいことを意味し、これは $\lambda$ が大きいことを意味します。 $\lambda$ が吸収波長となりますので、共役系が存在すれば、 $\lambda$ が大きい領域、すなわち長波長側にピークが現れるということになります。

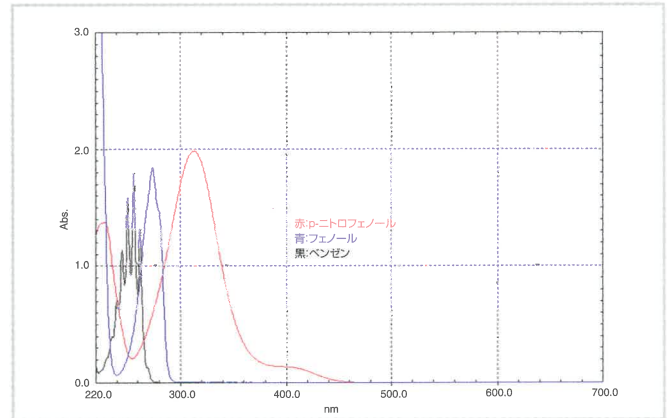


図5 ベンゼン、フェノール、p-ニトロフェノールの吸収スペクトル

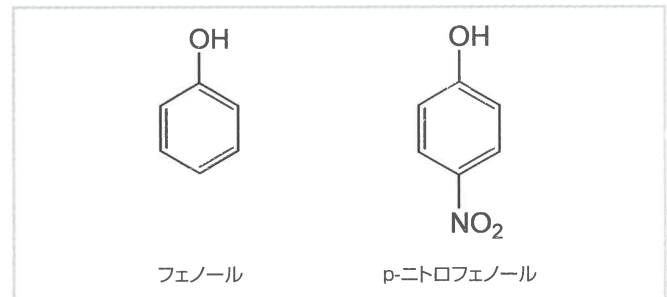


図6 フェノール、p-ニトロフェノールの構造

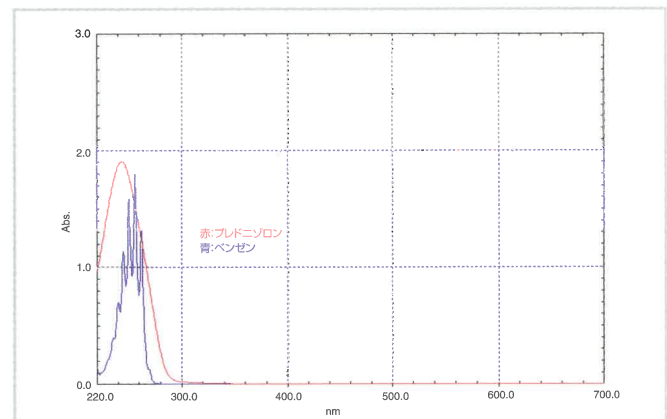


図7 プレドニゾン、ベンゼンの吸収スペクトル

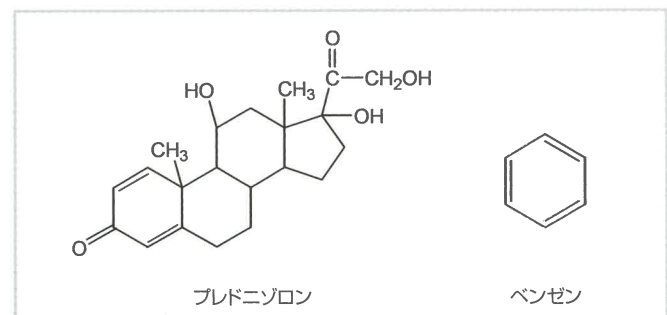


図8 プレドニゾン、ベンゼンの構造

Q

カタログに迷光と書かれていますがこれは何のことでしょうか？

A

迷光とは分光光度計で設定した波長の光に含まれる目的波長以外の光のことを言います。目的波長の光に対するその波長以外の光の総和との割合(%)で示します。

迷光の模式図を図1に示します。図の青色部分が目的波長、灰色部分が迷光になります。

この迷光のチェックには特定の波長を透過させないフィルタ (NaI溶液フィルタ、 $\text{NaNO}_3$ 溶液フィルタなど) を用います。本来フィルタで吸収され全く透過しない波長に測定波長を設定して透過率測定を行い、その透過率から迷光量を求めます。

迷光が問題になるのは、定量分析の際に検量線の直線性に影響を与える要因となるからです。吸光度の低い領域ではほとんど影響は見られませんが、吸光度の高い高濃度領域で迷光の量が多いと検量線が曲がりやすくなります(図2参照)。迷光は目的波長と違う波長の光ですのでサンプルによって吸収されません。他の波長の光が吸収されずにサンプルを透過していますのでランベルト・ベールの法則により吸光度が真値より低くなります。

検量線が曲がった場合でも2次式などを用いると定量できますがサンプル濃度変化量に対する吸光度の変化量が小さくなるため定量誤差が大きくなります。

一般にシングルモノクロメータの装置とダブルモノクロメータの装置を比較するとダブルモノクロメータの装置の方が迷光は少なくなります。

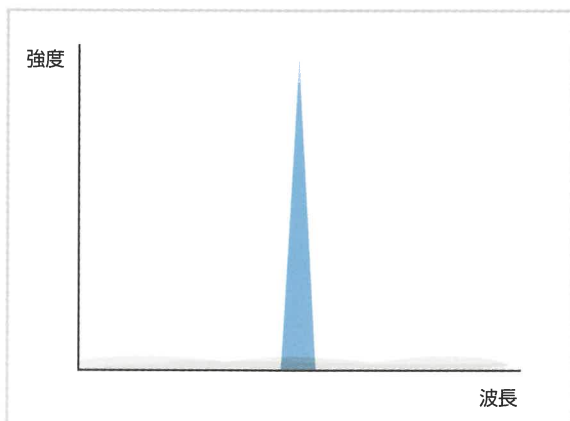


図1: 迷光の模式図

■: 目的波長 ■: 迷光

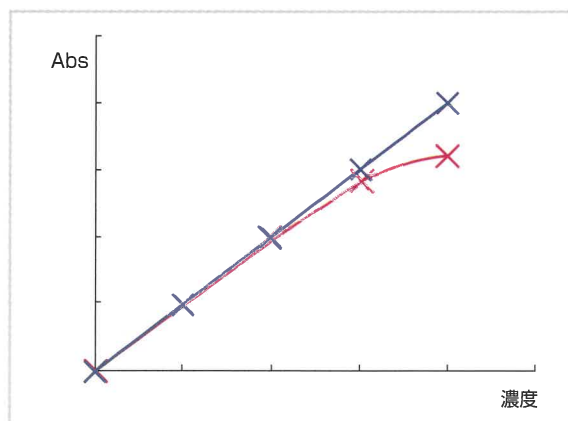


図2: 迷光による検量線の変化

—: 低迷光装置 —: 高迷光装置

# NEW PRODUCTS



汎用機を越えた  
高感度・高性能

簡単操作・高性能ソフトウェア  
IRsolution

拡がる  
アプリケーション

島津フーリエ変換赤外分光光度計

## IRAffinity-1

FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROPHOTOMETER

端正なフォルムに包まれたコンパクトなフーリエ変換赤外分光光度計です。ダイナミックアライメント機構により干渉計の常時最適化を図り、また除湿器を内蔵することでイーゼーメンテナンス化を達成しました。クラス最高レベルのS/N比注)30,000:1(分解 $4\text{cm}^{-1}$ 、1分間積算、 $2100\text{cm}^{-1}$ 付近、ピーク・ピーク)、最高分解 $0.5\text{cm}^{-1}$ 、コンパクト化を実現しています。さらに、操作性を重視した高性能ソフトウェアIRsolutionと解析支援プログラム(異物解析プログラム、日本薬局方対応プログラム)により簡単にデータ処理や解析が行えます。

※ 2008年1月現在の当社調べ



**UV**  
TALK LETTER  
Vol.2

発行日 ● 2008年9月1日  
編集・発行 ● 株式会社島津製作所分析計測事業部  
連絡先 ● 応用技術部内UV TALK LETTER 事務局  
〒604-8511 京都市中京区西ノ京桑原町1  
TEL.075-823-1186 FAX.075-841-9326