

紫外可視・蛍光分光分析の基礎と応用

1. 紫外可視分光法の基礎と各種測定法
2. 紫外可視分光光度計のバリデーションとメンテナンス
3. 蛍光分光法の基礎と応用

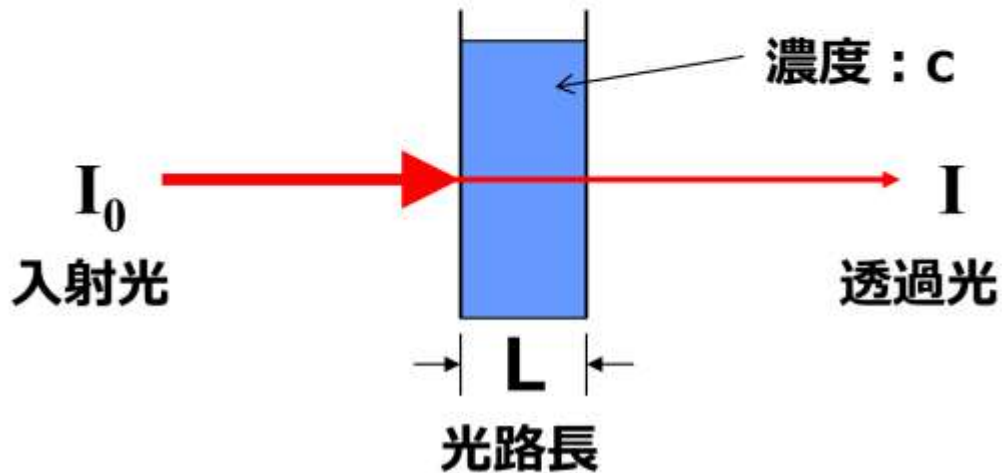
紫外可視分光法の基礎と各種測定法

【1】紫外可視分光法の基礎

【2】紫外可視分光光度計の構造

【3】溶液測定と固体測定

3. 透過率と吸光度



- ・ 透過率 Transmittance (単位 : % T)

$$T = I / I_0 \quad \text{反射率のとき (単位 : \% R)}$$

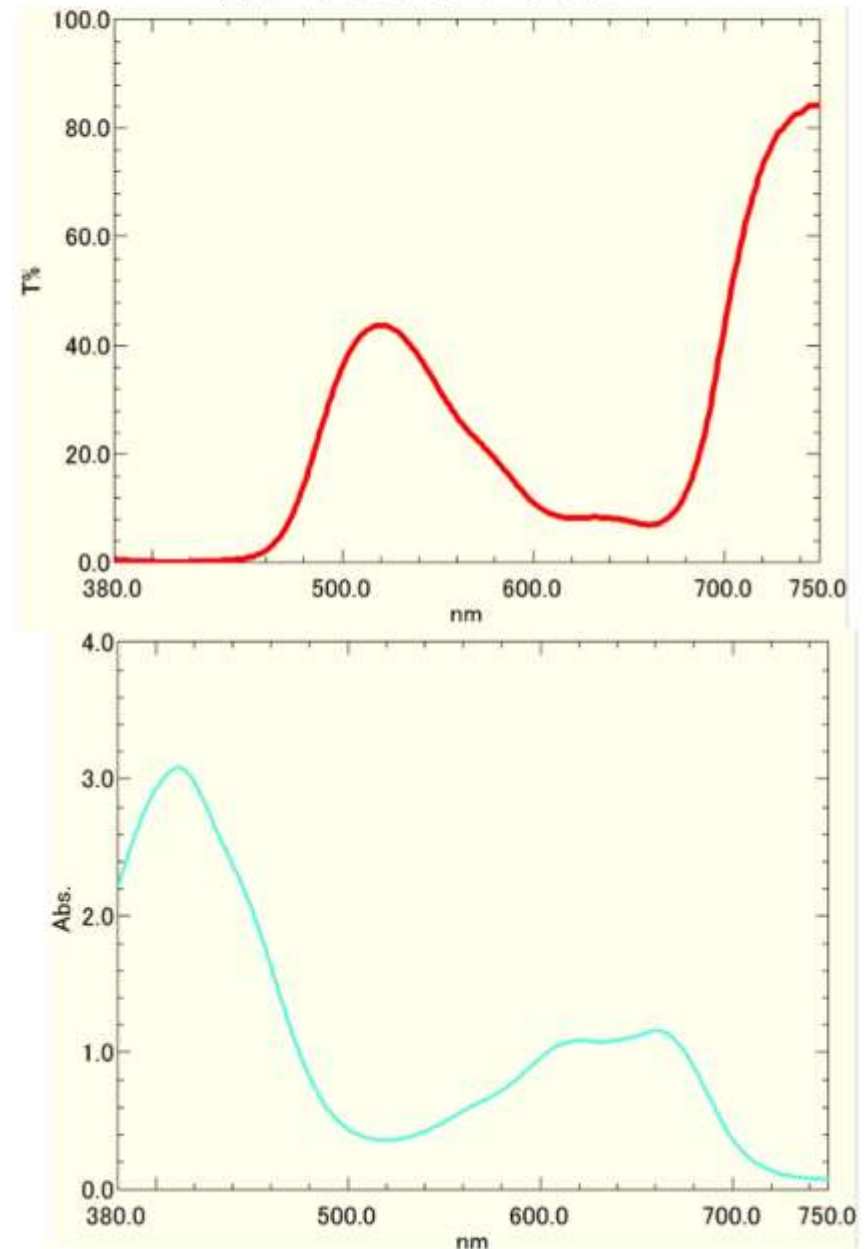
- ・ 吸光度 Absorbance (単位 : Abs.)

$$Abs = \log_{10}(1/T) = \epsilon c L$$

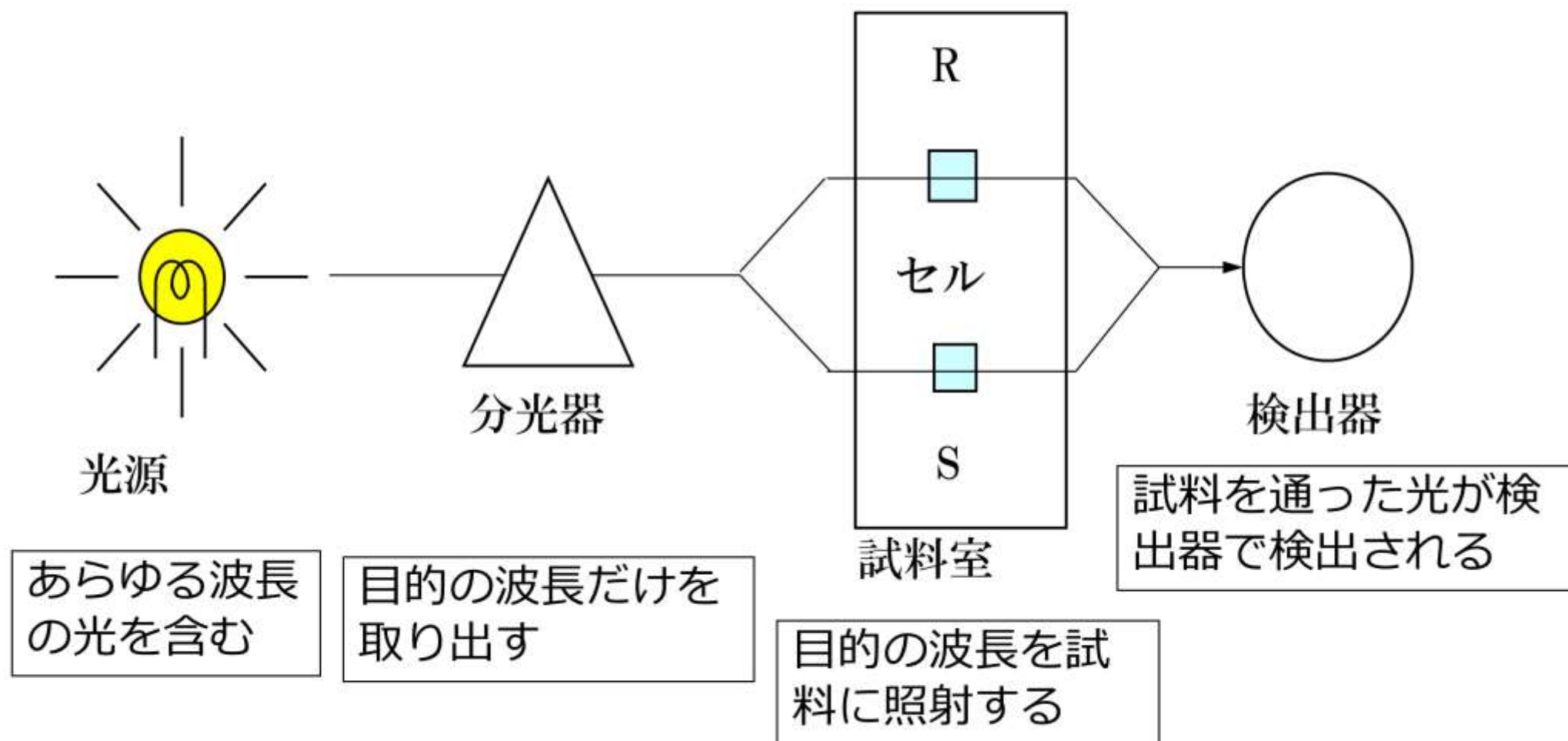
ϵ : 吸光係数 c : 濃度 L : 光路長

(例 : 10 % T = 1Abs., 1 % T = 2Abs., 0.1 % T = 3Abs.)

緑フィルムのスペクトル



紫外可視分光光度計の構成



溶液測定 of 留意点

1. 実測定手順
2. セル
3. 溶媒
4. 定量
5. 実試料測定時の注意点

2. セル

2-1. セルの種類（材質）と透過特性

2-2. セルの洗浄

2-3. 低濃度試料分析

2-4. 高濃度試料分析

3. 溶媒

- 3-1. 使える溶媒、使えない溶媒
- 3-2. 有機溶媒のスペクトル
- 3-3. 溶媒（グレード）
- 3-4. 使えない溶媒・セルでの測定

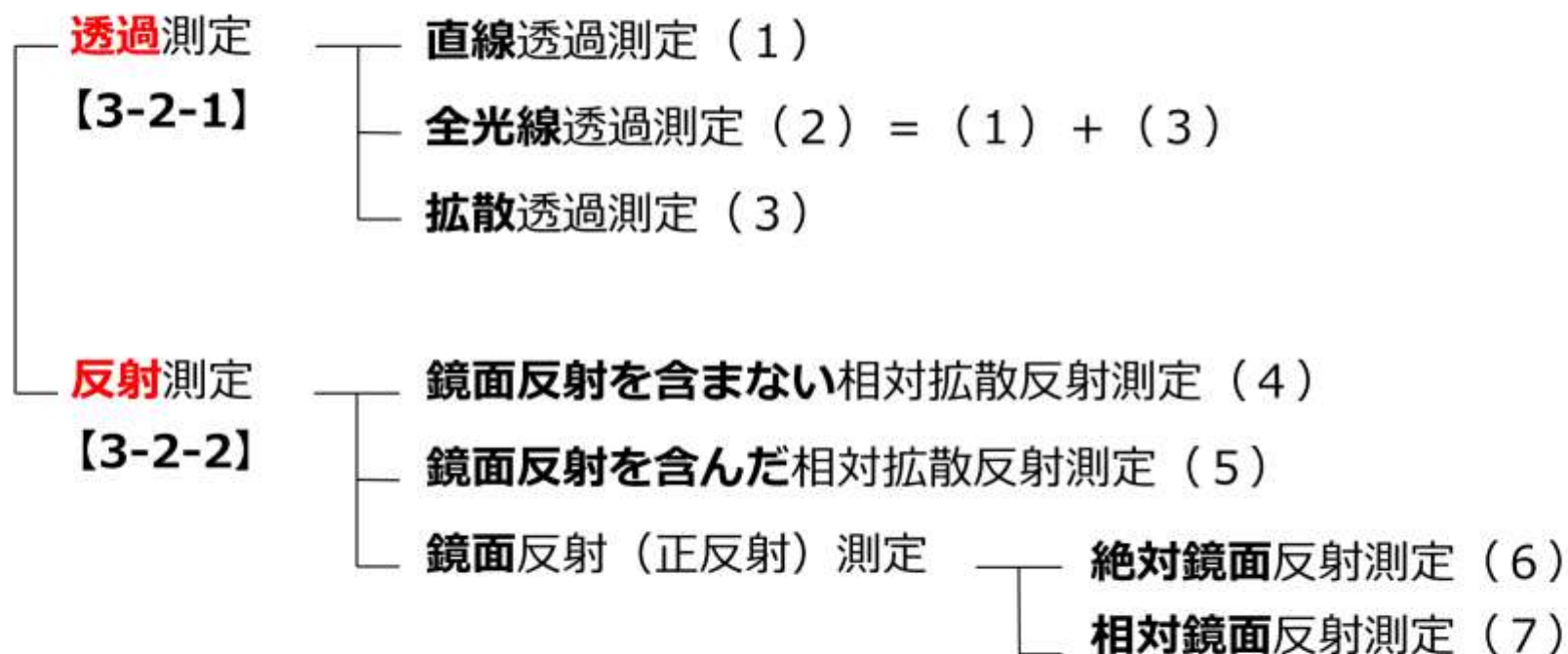
4. 定量

4-1. 迷光による定量分析への影響

4-2. 定量下限値と検出下限値

4-3. スリット、分解、バンド幅

測定法の種類



紫外可視分光光度計の バリデーションとメンテナンス

吸光光度分析通則（JIS K0115 ○印）

装置の性能（定期点検手順書の9項目）	全自動	半自動	薬局方
（１）波長正確さ	○（ランプ°）	○（フィルタ）	◎（ランプ°）
（２）波長設定繰り返し精度	○（ランプ°）	○（フィルタ）	◎（ランプ°）
（３）分解	○（ランプ°）	◎（試薬）※	
（４）迷光		○（試薬）	
（５）測光正確さ		○（フィルタ）	◎（フィルタ）
（６）測光繰り返し精度		○（フィルタ）	◎（フィルタ）
（７）ベースライン安定度	○		
（８）ベースライン平坦度	○		
（９）ノイズレベル	○		

※ 欧州薬局方記載の分解確認用試薬

⑥ 日常点検項目／日常点検記録

	点 検 項 目	内 容	備 考
1	試料室の点検	・試料室ユニットの底に液体試料がこぼれていないことを確認。 （試料室底の点検） ・試料室が正しく分光光度計本体に取り付けられていることを確認。 （試料室の取付確認）	
2	D C ファンの確認	D C ファンが回転していることを確認	
3	初期設定の確認 （光源点灯の確認）	・初期設定の自動チェックの全項目が合格することを確認。 ・UV-120 の場合は代りに電源 O N 時に光源が点灯していることを確認	
4	光束の確認	550nm の光束により光束がセルの中心に当たっていることを確認。	
5	波長正確さの確認	重水素ランプの輝線により波長正確さを確認。	UVmini-1240V, UV-120, 1200V 以外に適用
6	ベースライン平坦性の確認	ベースライン平坦性を確認	UV-120, 1200V, 1200 以外に適用
7	装置使用時間の記録	装置の使用時間を記録する。	

全 3 頁

[illegible]

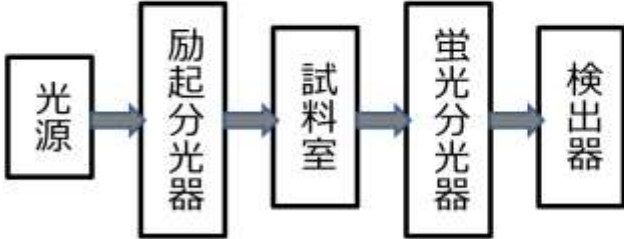
蛍光分光法の基礎と応用

- 蛍光分光法の基礎
- 定量分析における紫外可視分光法と蛍光分光法の差異
- 蛍光の選択性
- アプリケーション
- バリデーション

内容

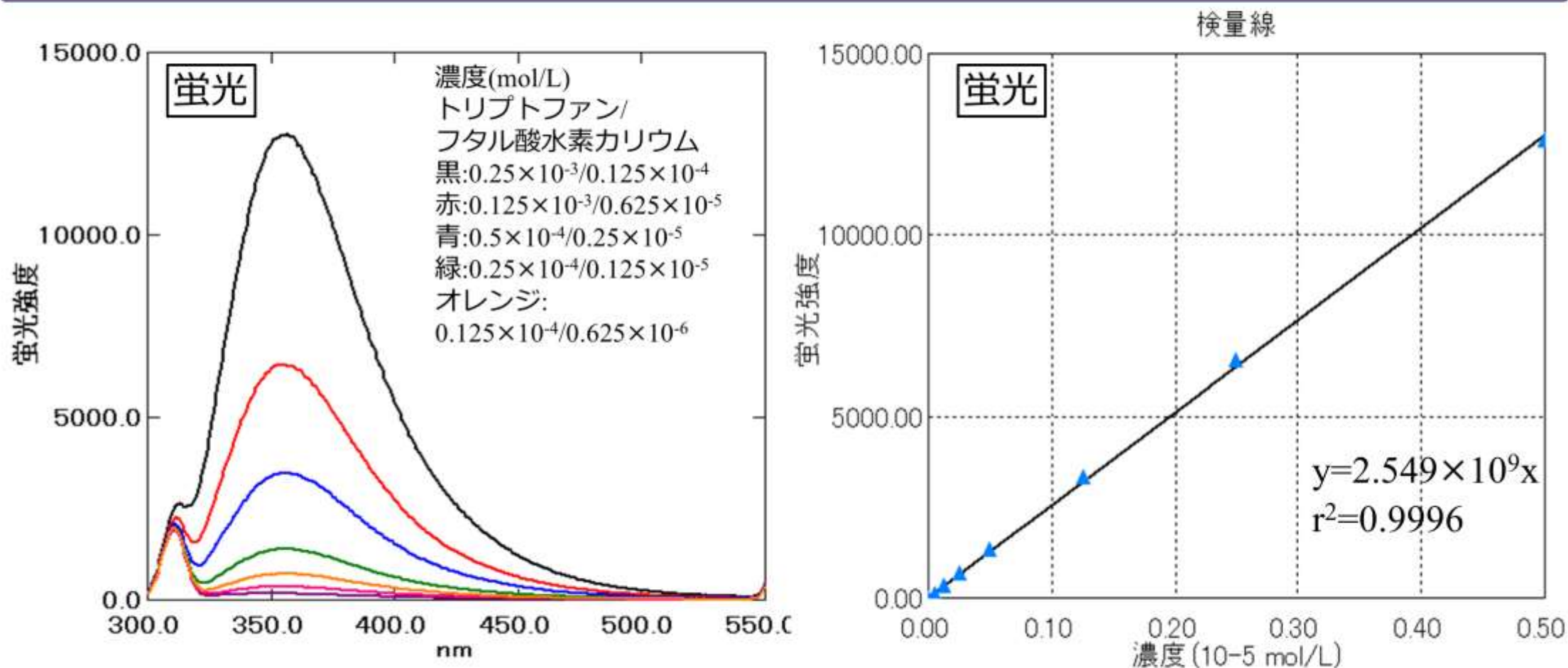
- 蛍光分光法の基礎
- 定量分析における紫外可視分光法と蛍光分光法の差異
- 蛍光の選択性
- アプリケーション
- バリデーション

紫外可視分光法と蛍光分光の比較

	紫外可視分光法	蛍光分光法
装置構成	 <pre> graph LR A[光源] --> B[分光器] B --> C[試料室] C --> D[検出器] </pre>	 <pre> graph LR A[光源] --> B[励起分光器] B --> C[試料室] C --> D[蛍光分光器] D --> E[検出器] </pre>
長所	● 紫外可視域に吸収がある物質であれば、全てに対して紫外可視分光光度計でスペクトル測定が可能。 ● 対照光束を測定するので、装置特性を含まない試料それ自体のスペクトルを測定することができる。 ● 異なった紫外可視分光光度計で測定しても、スペクトルや吸光度の比較が可能。	● 蛍光強度は発光現象を直接測定した値で、言わばゼロからの積み重ねとなるので、紫外可視分光法よりも感度が高い。 ● 励起と蛍光スペクトルのピーク波長は物質によって異なるので、他成分の影響を抑えてスペクトルの測定や強度値を取得できる可能性がある。
短所	● 入射光と透過光の強度に差が見分けられるか否かが検出下限を決定する。感度は蛍光分光法よりも低い。	● 紫外可視域に吸収があっても蛍光を放出するとは限らない。 ● 対照光束がなく、シングルビームを直接測定するので、補正処理がない場合、装置特性を含んだスペクトルとなる。
その他	● 励起状態の振動エネルギー準位間のエネルギー差が紫外可視スペクトルに反映する。	● 補正した励起スペクトルは、量子収率が一定であれば、紫外可視分光光度計で測定したスペクトルと同じ形状を示す。 ● 励起状態の振動エネルギー準位間のエネルギー差が励起スペクトルに、基底状態の振動エネルギー準位間のエネルギー差が蛍光スペクトルに反映する。

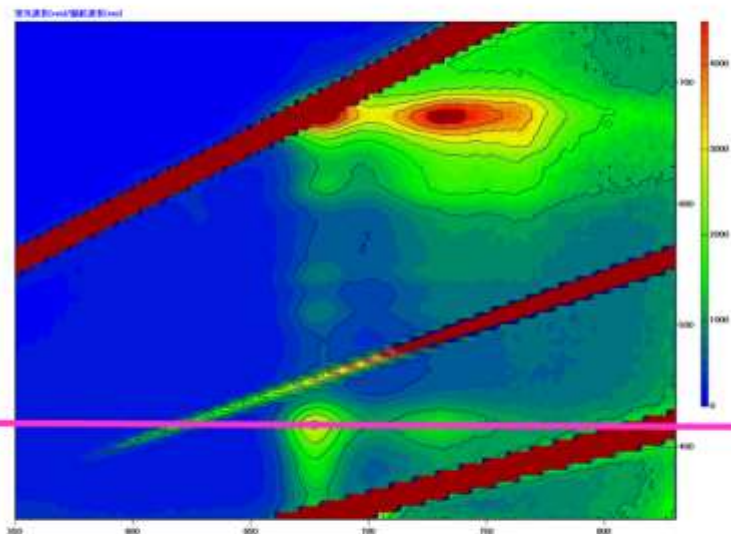
トリプトファン+フタル酸水素カリウム混合物の 蛍光スペクトルと検量線

フタル酸水素カリウムと混合した場合、トリプトファン単体の場合と同様の検量線が得られる。

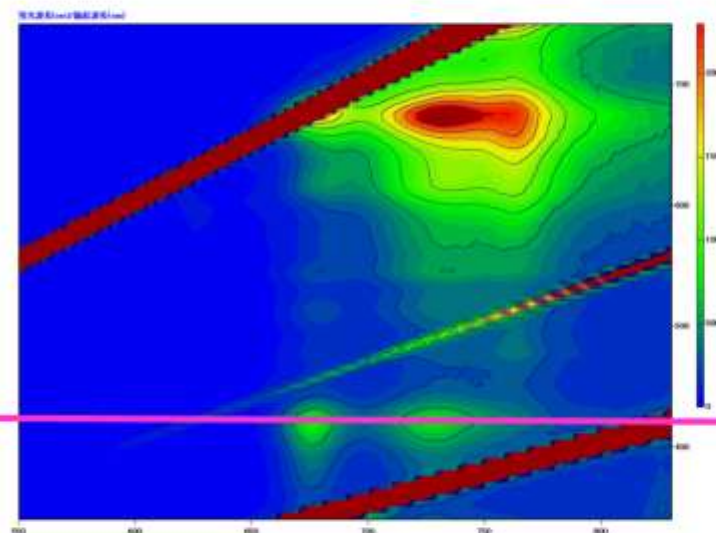


他の物質が混合していても、それが蛍光を発しない場合はスペクトルが妨害されない。

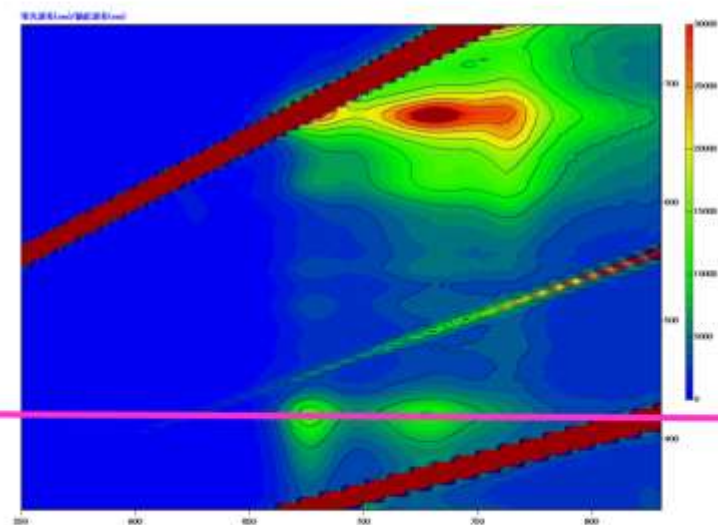
4種類の紅茶の3次元スペクトル



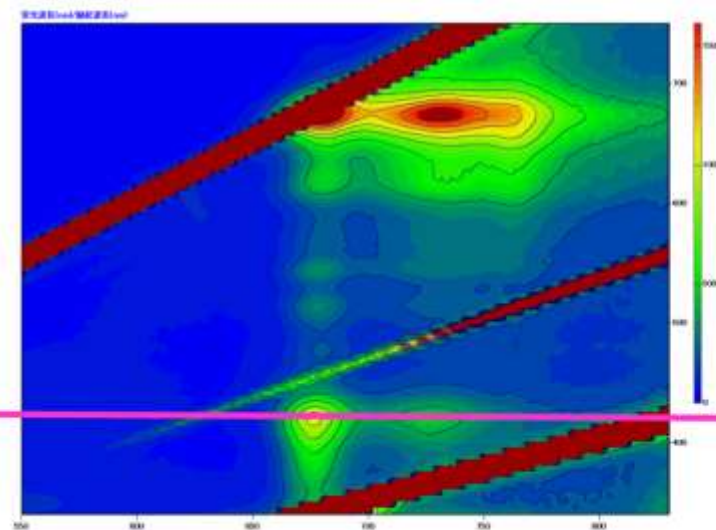
No.1 : ディクサム



No.2 : ウバ・ハイランズ



No.3 : キャメロン・ハイランズ



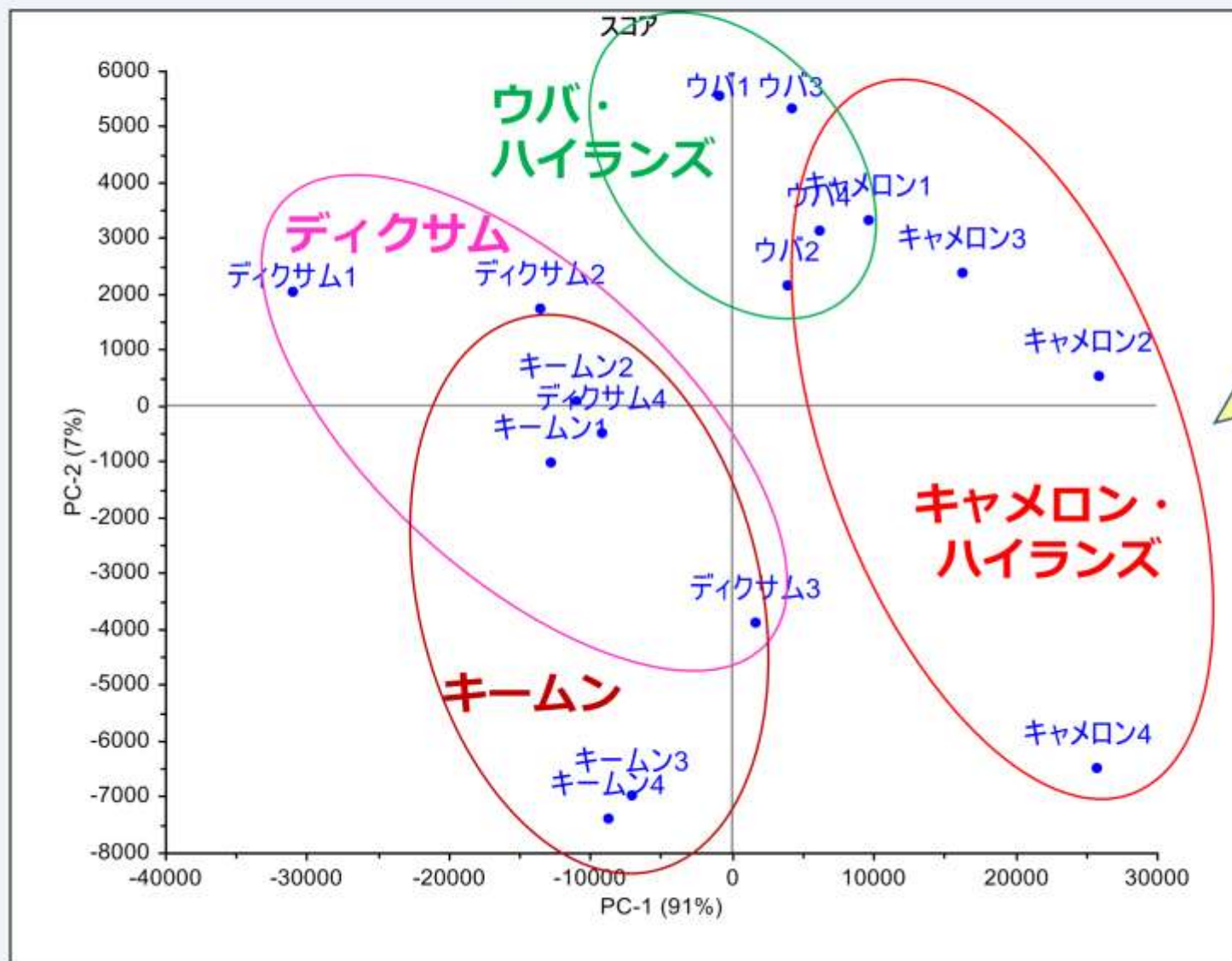
No.4 : キームン

Ex 420nm

主成分分析による結果

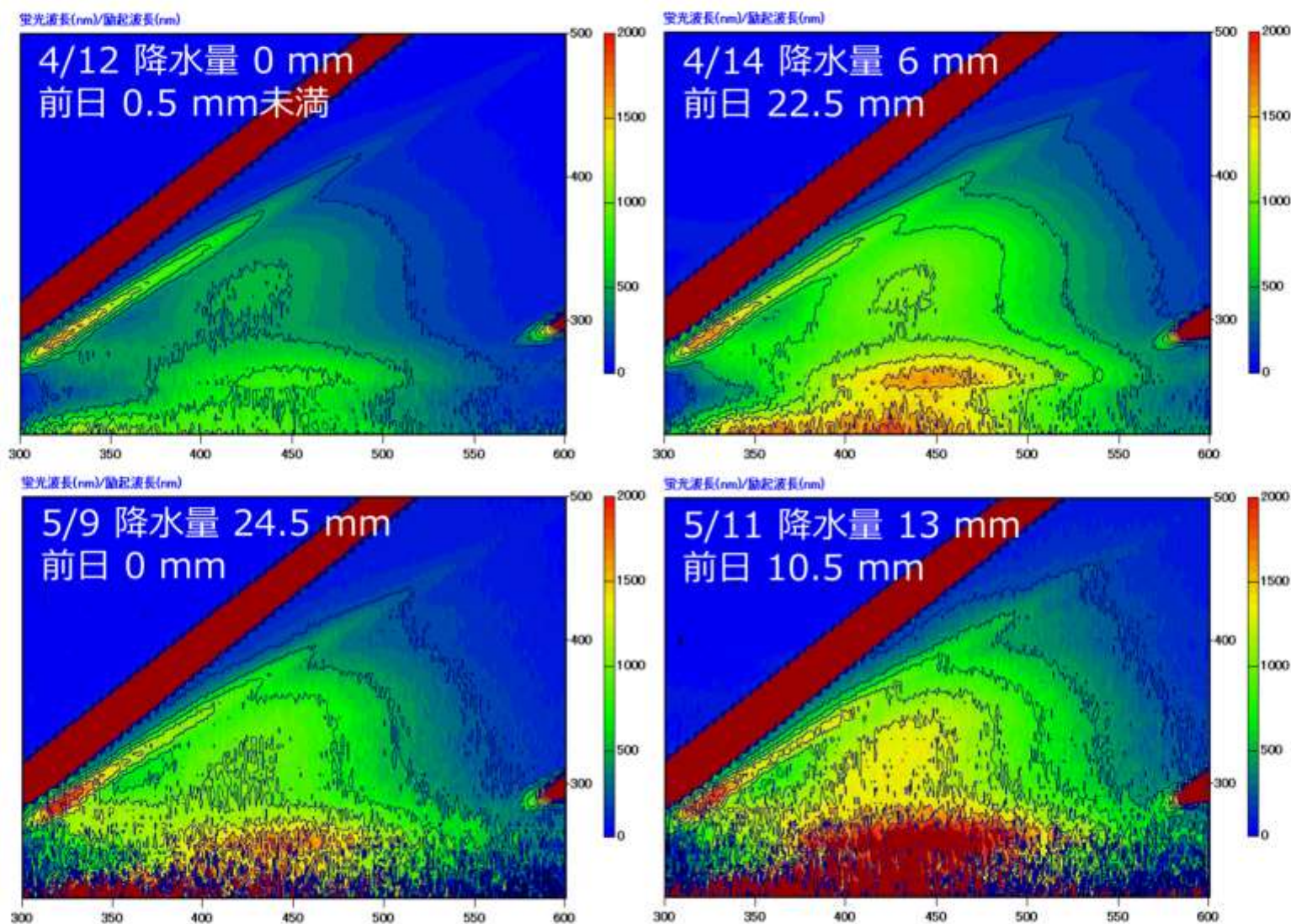
～ スコアプロットによる分類・グループ化 ～

スコアプロット



スコアプロットから成分の分類やグループ化が行える。
ウバ・ハイランズとキャメロン・ハイランズは似ており、ディクサムとキームンは似ている。

降水量による河川水の蛍光の変化



当日または前日の降水量が多いと腐食物質やたんぱく質のピーク強度が増加

LED電球の色度図

LED電球の発光スペクトルを使って計算したカラー値は、LED電球の色と一致した結果を示している。

