講座

「分光機器」

第4講 紫外可視分光光度計

高田 通之助

株式会社島津製作所 第一科学計測事業部 技術部
第一技術課 京都市中京区西ノ京桑原町 1 (〒604)

(1985年5月8日受理)

Spectroscopic Instruments

IV. UV-VIS Spectrophotometer

Michinosuke TAKADA

R&D Engineering Dept., Analytical Instruments Div., SHIMADZU CORPORATION
1 Nishinokyo-Kuwabaracho Nakagyo-ku Kyoto 604

(Received May 8, 1985)

1. はじめに

本誌の Vol. 19 に掲載された分光機器の講座の第2講に分光光度計についての解説が行なわれているが、今日見直してみると、確かに、現在の分光光度計は様変りが激しいものの、細かく見ると大部分はマイクロコンピュータを中心とした電気系の変化であって、光学系に関する部分については本質的な変化は少ない。

従って、これからの記述も集積回路・マイクロコンピュータ化を中心とした解説になっていかざるを得ないと思う。分光器については本講座の第1講に詳しく述べられているので、今回はその他の要素について最近の新しい技術を含めて、現状と問題点をとらえていきたいと考えている。

2. 分光光度計の最近の変遷

それまで真空管を用いて構成されていた分光光度計の信号処理系は、1960年代の後半になってトランジスタ回

路化がはじまり、小型化・低電力化の道を進みはじめた。ところが、1970年代に入ると、たちまち IC 回路化がはじまり、1970年の中頃には早くもマイクロコンピュータを内蔵した自記分光光度計が出現した。当初は使用者にマイクロコンピュータの存在を感じさせないような外観になっていたが、パーソナルコンピュータの普及に従い、それが異和感なく受け入れられるようになったと見るや、操作パネルのキーボード化・CRT やフロッピーディスクの導入と一瀉千里にコンピュータ化されてしまった。このように検出器からあとの信号処理系の変遷はまさに目を見張るものがある。

紫外可視分光光度計がマイクロコンピュータ化によって変化した顕著な点について主なものを列举すると次のようになる。

(1) 操作パネルのキーボード化

ロータリースイッチや可変抵抗つまみをキースイッチ化することによって、ワンタッチ設定を可能にし、それにより設定ミスを防止する。

(2) 波長設定つまみの消滅

キー入力で波長設定することにより設定ミスを防止する。

(3) 感熱式グラフィックプリンタの採用

同一チャート上に吸収スペクトルを記録するほか、測定パラメータ・測光値等の印字も可能にし、測定値のデータ整理の手間をへらして省力化を可能にした。この種の記録装置は、チャートや感熱ヘッドを駆動するパルスモータをマイクロコンピュータから直接制御することができ、メーカー側にとっては、従来のサーボモータを用いた記録計にくらべると構成が簡単で、調整が楽になるなどのメリットがある。

(4) 分光光度計のブラックボックス化

マイクロコンピュータに内蔵されているプログラムが公開されるということは、まず考えられないため、従来の装置のようにユーザーが自分の要求に合わせて勝手に改造して使用することがきわめて困難になった。さらに fool-proof が充実してきて、試料をセットしてボタンを押せばもっともらしい結果がひとりでに得られるため、間違ったデータでも見過ごされてしまう恐れがある。この点は使用する側の充分な注意が必要である。

(5) データ処理機能の充実

メモリー素子の普及に伴って、ハードウェアのコストアップを必要とせず、プログラム量をふやすだけでデータ処理機能をふやしていくことが可能になった。

(6) ハードウェアの信頼性の向上

ブラックボックス化と関連があるが、LSI (大規模集積回路) の採用により、同一機能で回路素子を大幅に減らすことができ信頼性が向上した。これはマイクロコンピュータ化によって、従来のテスターと半田コテを使った修理が不可能になり、必然的に信頼性をあげると共に修理方法もプリント板交換方式のような簡単な方式に移行せざるを得なかったという事情にも関連している。

3. 分光光度計の測光方式

最近市販されている紫外可視分光光度計をその測光方式で分類すると Fig. 1 のようになる。以下、それぞれの方式について簡単に解説する。

3.1 シングルビーム方式 (Fig. 2)

固定波長で測定し、通常はスペクトルの自記記録はできない。測定する際は、まず対照セルを光路に入れて 100%T (ABS. 0) あわせを行ない、次いで対照セルの代りに試料セルを光路に入れて測定する。この方式では、光源・検出器および信号処理系を安定にしておかないと、対照セル測定時と試料セル測定時の間にドリフトを生じ、場合、たちまち測定誤差になってしまうことになる。

最近では、このクラスの分光光度計にもマイクロコンピュータを組み込んで、まず対照セルについて波長走査を行なってそのエネルギー曲線を測定し記憶したあと、試料セルについて同様に測定し、両者のエネルギーの比を各波長について演算して、試料の吸収スペクトルを自記記録することのできる装置も現われている。しかし、シングルビーム方式の弱点としてのドリフトの大きいことは避けられないようである。

3.2 一波長ダブルビーム方式

ダブルビーム方式は、シングルビーム方式のドリフトが大きいという欠点を解決したもので、分光器からの光束を対照光束と試料光束の二つに分割し、対照光束によって光源その他のドリフトを常時モニタすると同時に、

Fig. 1. 測光光学系による紫外可視分光光度計の分類

Fig. 2. シングルビーム方式の分光光度計

Fig. 3. 一波長ダブルビーム方式 (シングルディテクタ) の分光光度計

波長走査による吸収スペクトルの自記記録を可能にしている。光束の検出方式によって次の二つの方式がある。

3.2.1 シングルディテクタ方式 (Fig. 3)

ダブルビーム分光光度計の中で最もよく使われている方式である。対照セルと試料セルを通過した二つの光束は、通常、ビームコンバイナー (beam combiner) によって単一光束にまとめられて、単一検出器により測定する。場合によってはビームコンバイナーを使用せずに、二つの光束を単一検出器に斜めに入射させて測定する。

3.2.2 ダブルディテクタ方式 (Fig. 4)

対照光束と試料光束をそれぞれ独立の検出器で受光する方式である。

シングルディテクタ方式では、1個の検出器で対照光束と試料光束を測定するために、回転ミラーやチョッパー等を使って検出器に両光束を交互に入射させる工夫が必要であるが、ダブルディテクタ方式ではそのような必要がなく、故障しやすい機械的な可動部分を少なくすることができる。

さらに、光学系の構成上から試料を検出器の直前に置くことが可能になるので、懸濁液の測定も高感度で行な

うことができる。

問題は、それぞれの検出器の特性のマッチングが悪いと、ベースラインの曲りや、温度ドリフトが生じやすいことである。最近よく用いられるシリコンホトダイオード検出器の場合は、光電子増倍管にくらべると製法上マッティングさせやすいので、コンピュータによるベースライン補正を行なうことによりドリフトの少ない測定も可能である。

3.3 二波長シングルビーム方式 (Fig. 5)

一波長ダブルビーム方式では、 λ_1 という一つの波長の光束を対照試料Rと測定試料Sに照射して、対照試料に対する測定試料の吸光度 A_{λ_1} を測定するのに対して、二波長シングルビーム方式では λ_1 及び λ_2 という二つの波長の光を一個の測定試料Sに交互に照射して、二つの波長における吸光度差 $A_{\lambda_1} - A_{\lambda_2}$ を測定する。

この二波長測定法は、ある波長 λ_1 での吸光度測定において妨害要因となる濁りや散乱あるいは他の成分の共存によるスペクトルの重なりといった現象を、もう一つの波長 λ_2 での吸光度測定によって予測し 妨害要因の消去を行なうものであり、次のような応用ができる。

Fig. 4. 一波長ダブルビーム方式 (ダブルディテクタ) の分光光度計

●一波長ダブルビーム測定法

●二波長測定法

Fig. 5. 一波長ダブルビーム方式と二波長シングルビーム方式

(1) 生物試料の酸化・還元状態のように、両方の状態で濁り度が変化する場合、あるいは錠剤溶出試験のように試料が溶出するに従って濁り度が増す場合に、濁り度の影響を最小限に抑えながら吸光度変化の測定や、吸収スペクトルの変化の測定ができる。

(2) 混合2成分系の分離定量が可能である。

(3) セル誤差（セル自身の透過率のバラツキ・汚れ・むら等）が、λ₂の波長で補正されるので微小吸光度差が精度よく測定できる。

4. 紫外可視分光光度計を構成する要素

代表的な一波長ダブルビーム分光光度計の系統図を

Fig. 6 に示す。最近のダブルビーム分光光度計では、このように装置の大部分がマイクロコンピュータによって制御されている。以下、構成要素の各部について述べていくことにするが、すでに Vol. 19 の講座に述べられている部分については重複を避けるため省略して、最近の技術に関する部分に重点を置いて紹介していくのでご了承願いたい。

4.1 光源

最近よく用いられる可視域用光源としてハロゲンランプがある。従来は、タングステンランプが最も良く用いられていたが、このランプは安価ではあるものの、点灯中にフィラメントのタングステンが蒸発して管壁に付着

Fig. 6. ダブルビーム分光光度計の電気系統図 (島津 UV-240 の例)

し管壁を黒化させるため、管壁の透過率が次第に低下すると同時にフィラメントも細くなり、次第に光量が減少してくるのが欠点であった。ハロゲンランプは、このタングステンランプの管内にごく微量のハロゲンガスを封入したもので、フィラメントの部分も高密度に巻いて輝度が高くなるようにしてある。ランプ自身が高温になるため、管壁は石英ガラスになっており、タングステンランプより短波長域まで使用することが可能である。ハロゲンランプを特長づけているのは Fig. 7 に示すハロゲンサイクルと呼ばれる現象である。点灯時にフィラメントから蒸発したタングstenは、温度の低い管壁部分でハロゲンガスと結合してハロゲン化物を構成する。このハロゲン化物は管内の対流によって移動して、高温のフィラメント付近で再びハロゲンとタングstenに分離する。その結果、タングstenは、フィラメントに戻るため、管壁の黒化は生じないし、フィラメントの消耗も防止される。従って断線寿命まで光量がほとんど変化しない。

Fig. 7. ハロゲンサイクルの模式説明図

い。当初はプロジェクタ用ランプとして使用され、寿命も50時間程度と短かったが、最近では2000時間の定格寿命を保証する長寿命形のものも出てきており、今後、タングstenランプに代って多用されていくものと考えられる。

光源についての今後の課題として、単一のランプで全波長域をカバーできるような小型で安価なものや、安価で長寿命な波長可変レーザーの出現が望まれる。現在、一つの管内に重水素放電管とハロゲンランプをいっしょに封入したものや、重水素放電管の発光電極部分に貫通穴をあけ、後方に設置したハロゲンランプの光を重水素放電管の発光と重畳させて取り出す光学系などが試みられ、一部製品に組み込まれているものもある。

前者はランプ自体が高価になるし、どちらか片方のランプが不良になっても両ランプの交換が必要になることから、結局高くつくし、後者ではハロゲンランプからの光束の利用率が低くなってしまってもったいないということなどから、なかなか普及はむずかしいようである。

4.2 分光器

分光器については本シリーズの第一講で報告されているので、ここでは分光光度計におけるシングルモノクロメータとダブルモノクロメータについて、その得失を述べるだけにしておくことにする。

分光器が一つのものがシングルモノクロメータであり、分光器が二つ直列に配置されているのがダブルモノクロメータである。二波長分光光度計のように分光器が二つあっても並列に配置されているものはダブルモノクロメータとは言わない。

ダブルモノクロメータの光学系の一例を Fig. 8 に示

Fig. 8. プリズム・グレーティング式ダブルモノクロメータの光学系 (島津 UV-365 の例)

す。ダブルモノクロメータの場合、それぞれの分光器の迷光レベルが0.1%であったとすると、光源から出た光はまず第一番目の分光器で分光されて単色光となる。この光束は第二番目の分光器でさらに分光されるが、はじめの分光器で0.1%になった迷光レベルは第二番目の分光器でさらにその0.1%になるので総合すると0.0001%の迷光レベルとなる。これによって低迷光が達成できるのであるが、単色光の強度の方も分光器を2回通過する分だけ減少するため、同等のシングルモノクロメータにくらべると数分の以下程度に弱くなっている。従って、エネルギーが、シングルモノクロメータにくらべて弱い。ため、測定対象によってはシングルモノクロメータより劣った結果しか得られないこともあるので、選択にあたっては注意が必要である。

ダブルモノクロメータには Fig. 8 に示すように S_1 , S_2 , S_3 の3つのスリットが存在するが、2つの分光器が完全な分光器として動作するには、この3つのスリットをすべて連動させ開閉する必要がある。このような分光器を加分散形ダブルモノクロメータと言う。 S_1 または S_2 を広いスリット幅のまま固定し、他の2つのスリットだけを連動して開閉する簡便方式のダブルモノクロメータもある。前者の加分散形ダブルモノクロメータは迷光が少なく、しかも分解が高く高性能を誇るが、特にスリットの機構が複雑になり高級自記分光光度計にしか用いられない。後者の簡便方式のものは、第一番目の分光器が迷光をへらすフィルタの役目しか果たさないで、迷光は少ないものの分解に関してはシングルモノクロメータと同程度の性能になる。

4.3 ダブルビーム光学系

以前は、ベースラインの曲りや安定度に直接関係するのでダブルビームの光学系の構成は大切な問題であり、対照側と試料側のそれぞれの光路で反射鏡の枚数をそろえとか、マッチングさせるなどの苦勞があった。いまでは、分光光度計がマイクロコンピュータ化された結果、ベースライン補正の能力が格段に良くなって、あまり問題にされなくなってきている。使用する側から見れば最終性能さえ良ければよいのかもしれないが、標準の状態でベースライン補正された結果だけを信用してしまうと、アンバランスなダブルビーム光学系になっていたために、試料をセットして測定すると光源ランプの切替え部分に段差がつくとか、フィルタ切替え部分にショックノイズが出るなどの不具合を生じることがあるので注意が必要である。

ここで、参考のために光束分割のいろいろな方式を Fig. 9 に示す。時分割方式のもの(a, d, h, j)及び静止形

Fig. 9. 光束分割方式

のもの(b, c, e, f, g, i)がある。時分割方式は、対照側・試料側の光束の光の強さが分割前の光束の光の強さと同じであるという長所をもつ反面、機構が複雑で高価になる、応答時間が制限されるなどの弱点をもつ。静止形の方は逆に対照側・試料側の光束の光の強さが、分割前の光束の1/2以下になるが、機構が簡単で故障も少ない。

4.4 検出器

最近よく使用されるものにシリコンホトダイオードがある。シリコンのP/N接合面に光が入射すると電子-正孔対が生じる。電子はN形領域に、正孔はP形領域にドリフトしていき、それぞれの領域に電荷が蓄積されて起電力を発生する。両方の領域を外部回路に接続すれば入射光量に対応した光電流が流れる。小形・軽量・低ドリフトを特長とする検出器で量子効率 $40\sim 80\%$ ときわめて高いが、光電子増倍管のような光電流増倍機能はない。

Fig. 10 に代表的なシリコンホトダイオードの分光感度特性を示す。素材から来る特長として分光感度特性が近赤外域の1150 nm 付近まで延びている。受光面の感度ムラも光電子増倍管にくらべると格段に少なく、この点は測光正確さを追求する場合に有利である。(6項参

Fig. 10. シリコンホトダイオードの分光感度特性
(浜松トホクス社 カタログより抜粋)

照) 紫外可視の波長域には、光電子増倍管というすぐれた検出器があり、それに比べると、感度、S/N 等では及ばないものの、小型・軽量・安定などの特徴が買われて中級自記分光光度計以下の機器におおく採用されている。

4.5 信号処理系

4.5.1 増幅器／対数変換器

真空管時代に前置増幅器（プリアンプ）・主増幅器（メインアンプ）と2つに分れていたものが、IC時代に入ってからドリフトの少ない FET 入力演算増幅器が比較的安価に入手できるようになったことから小型化されて一つにまとまり、検出器の近くに置かれるようになった。また、吸光度表示のための対数変換器はトランジスタやダイオードの電流電圧特性が LOG 特性を示すことを利用したものが一般的であるが、最近回路のスケール合わせやドリフト補正のわずらわしさを避けるためにマイクロコンピュータ内のデジタル演算で対数変換を行なうものが増えてきている。但し、コンピュータ演算であっても多項式展開を使った近似計算なので変換誤差がまったく無いわけではない。

4.5.2 サンプルホールド／弁別回路

A/D 変換器の入力となるアナログ信号は常に変動しているので、A/D 変換の間、信号を一定になるようホールドしておく必要がある。また、増幅器の出力信号から対照信号・試料信号・暗電流信号を弁別することも必要で、そのためにサンプルホールド／弁別回路が用いられる。対照信号、試料信号のそれぞれから暗電流信号を引算したものが正式の対照信号、試料信号となる。

4.5.3 A/D 変換器

分光光度計に用いられる A/D 変換器には、その目的によって種々のものがある。

高速応答を必要とするものは逐次比較方式のものが使用され、12 ビット分解能のもので変換時間は数 μ s 数十 μ s である。波長走査速度のはやい自記分光光度計ではこの方式のものを採用している。

応答の比較的遅いものとしては、電荷平衡式、2重勾配積分方式、電圧／周波数変換方式などがある。応答時間は数 msec から 100 msec 程度と遅いが、積分効果によってノイズを減らすことができるし、価格も安いので、高速波長走査を必要としない分光光度計に用いられている。

分析装置では、測光のダイナミックレンジは普通 10^4 程度が要求されるので、A/D 変換器の分解能としては 16 ビット程度は必要である。この分解能が低いと、信号処理後に拡大してレコーダに記録する際、信号が階段状の変化（量子化ノイズ）を示すことになり、微細な変化の測定がむずかしい。

4.5.4 D/A 変換器

最近の自記分光光度計では、レコーダもパルスモータ駆動のものが多くなってきており、ペンの動きもマイクロコンピュータから直接制御される。従って、アナログ信号に変換するための D/A 変換器の必要性はあまり無い。ただ手持ちの X-Y レコーダなどに記録するために、D/A 変換器を備えアナログ信号を出力することのできる分光光度計がある。

マイクロコンピュータで拡大又は縮小などのデータ処理を行なってから出力されるので、D/A 変換された信号はその後拡大記録されることは少なく分解能としては、10～12 ビットもあれば十分である。

4.5.5 レコーダ

マイクロコンピュータの機能をフルに発揮するために、レコーダは従来のアナログ方式のものが少なくなり、感熱記録方式を採用し、感熱ヘッド・チャート駆動のいずれもをパルスモータ駆動とし、マイクロコンピュータから直接制御するいわゆるグラフィックプリンタが主流になってきている。

Fig. 11 に示すように、チャート上に吸収曲線の記録の他にパラータの印字や、たて軸・よこ軸のスケールの印字まで自動的に行なうことが出来るために、測定後のデータ整理の手間が大幅に短縮されるようになった。

難点は、感熱記録紙の耐熱性や耐薬品性が弱いことであるが、最近、表面に特殊なコーティングがされていて耐薬品性が大幅に改善された記録紙も出現してきている。

Fig. 11. 感熱記録紙へのデータ出力例

4.5.6 ベースライン補正

マイクロコンピュータが出現するまでの自記分光光度計では、波長走査と連動する多タップポテンショメータに多数の可変抵抗を取りつけたコンペンセーターと称する、電気カムによってベースラインの曲りを折線補正していた。従って、補正波長間隔は通常 20~50 nm 間隔となるため、精密な曲り補正は望むべくも無かった。そのため、光学系の調整に多くの時間をかけたり、外部のミニコンピュータ等のデータ処理装置に依存したりしてきた。

それが、マイクロコンピュータの出現により、補正波長間隔は 1~2 nm 程度はとれるようになり、多少の曲りはいとも簡単に補正できるようになった。その結果ベースライン補正のための今までの苦労は、うその様になってしまった。

最近の様にメモリ素子の価格が、どんどん下ってくると、分光光度計に内蔵するメモリー素子の容量を制限する必要がなくなり、吸収スペクトル記憶用のメモリーを

内蔵することにより、スペクトル同志のデジタル演算で、いわゆる差スペクトルの方式でベースライン補正することも可能になってきており、この場合には、0.1 nm 間隔でのベースライン補正も OK ということになる。

4.5.7 波長駆動

マイクロコンピュータ化された分光光度計の場合電源を ON にすると、まず一定の手順に従って分光器を走査して波長の原点を検出する。原点が見つかったら、波長カウンタを所定の値にセットして、あとは波長駆動用パルスモータの正転・逆転時のパルス数をカウントすることにより波長表示を行なっていく。

パルスモータを使わずに、波長設定つまみを手でうごかして波長をうごかしていくと、波長カウンタと実際の分光器の波長がずれてくることになる。従って、そのような装置では手動波長設定つまみは無いのが普通である。

波長の原点を見つける方法としては、回折格子分光器の 0 次光を使う方法や、重水素放電管の輝線スペクトル

を使う方法があるが、電源ONのたびに原点検出を行なうために、季節による気温の変化に伴なう波長シフトなども自動補正されることになり、マイクロコンピュータ化によって、以前にくらべると波長のずれは大きく改善されている。

5. マイクロコンピュータ

分光光度計に組み込まれているマイクロコンピュータと呼ばれる機能は、マイクロプロセッサ、ROM、RAM、I/O の 4 つの部分にわかれている。その他に、I/O につながるものとして、キーボード、CRT、グラフィックプリンタ、外部コンピュータインターフェースなどがあげられる。それぞれの部分についてここで詳しく説明するのは、本文の主旨にもそぐわないので専門の解説書を参照していただきたい。ここでは分光光度計との関連する範囲に留めて述べることにする。

5.1 マイクロプロセッサ

分光光度計の動作は、このマイクロプロセッサから出される指令にもとづいて行なわれる。分光光度計の動作ステップは、次頁で述べる ROM のなかにプログラムという名称ですべて記憶されており、マイクロプロセッサは、その手順を ROM から呼び出して来てはプログラムの内容に従って指令を出す。データの演算を行なうのもこのマイクロプロセッサの部分である。

分光光度計で扱う測光信号のデータは、通常16ビットのことが多いが、使用されるマイクロプロセッサは8ビットのものが多い。8ビットのマイクロプロセッサでは16ビットのデータは2回に分けて計算処理しなければならない。大形の装置などで、2回に分けて計算していたのではどうしても処理速度が遅すぎて困まるという場合は、8ビットのマイクロプロセッサを複数個使って、制御用とデータ処理用に役割を分担させているものや、16ビットのマイクロプロセッサを使用しているものもある。

5.2 ROM

分光光度計の動作ステップを一つもらず一連の手順にして記憶している素子であり、この手順の通りに分光光度計は動作する。その他に、いろいろのデータ処理に使用する定数のテーブル等も記憶されている。

5.3 RAM

演算の途中結果や測定パラメータを一時的に記憶しておくための素子で、吸収スペクトルの記憶にも使われる。最近では、消費電流の少ない CMOS メモリーやダイナミック RAM が安価で入手できるようになり、充電式の電池と組み合わせて、分光光度計本体の電源を OFF にし

てもメモリーの内容が電池によって保持されるようにしたバックアップメモリーが構成されるようになった。バックアップメモリーに測定パラメータ等をファイルの形で記憶しておいて、ファイルの番号を呼び出すだけでその測定条件が自動的に装置にセットされてすぐ測定にとりかかれるようになっているものが多い。

6. 測 光 正 確 さ

分光光度計で吸収の強さを測定する場合、その正確さに影響を与える因子について考えてみることにする。

ただすべての分光光度計がいつでも一定レベル以上の測光正確さを示すかというとはそうではないし、その必要もないので誤解のないようにしておいていただきたい。すなわち、分光光度計であるサンプルの吸光度の値そのものを問題にする時には測光正確さは必要であるが、あるサンプルの濃度の定量を行なう場合には、必ずしも測光正確さは必要ではない。何段階かの濃度の標準試料を作成して、それらを測定して検量線を作成しておけば、未知試料の吸光度を測定し、その吸光度の値をその検量線にあてはめるよにより未知試料の濃度を正しく決定することができる。(Fig. 12) この場合、検量線の傾きが、あまりにも小さいと定量精度は悪くなるかもしれないが、傾きが厳密にどの位でなければならないか規定する必要はない。濃度を云々する限りにおいて、測光正確さ(すなわち、吸光度の絶対値)そのものは、あまり重要な事項ではない。

測光正確さが問題にされるのは、次のような場合である。

- (1) 同一機種の装置間で機差が問題にされるとき。
- (2) ガラス試料の透過率値のように標準試料がなくて、検量線の作成ができない場合。

(1) については、同一機種であるから同一条件で測定すればほぼ同一の吸光度値を示すべきであると考えられる。もちろん機種(すなわち、光学系)が異なれば、こ

Fig. 12. 定 量 測 定

Fig. 13. バンド幅とピーク高さ

の限りではない。

(2) については検量線が作成できない以上、測定した吸光度値又は透過率値そのもので議論しなければならないからである。

6.1 スペクトルバンド幅

定量測定に重点を置いて設計された分光光度計は、分光器のスペクトルバンド幅が 2~10 nm の間の値になるようにスリット幅が固定されていることが多い。一方吸収スペクトルを測定するとき、吸収ピークのバンド幅と単色光のバンド幅の関係は Fig. 13 に示すようになり、単色光のバンド幅が広がると、観測される吸光度の値はだんだん低くなる。これは Fig. 12 の例で言えば、検量線の傾きがねてくることを意味する。しかし、検量線の直線性がだんだんずれてくるわけではないので、多少吸光度の値が低く測定されても濃度は正確に測定できるので問題はない。逆に、何らかの理由である試料の吸光度を正しく測定したい時には、その試料の吸収バンドのバンド幅から十分に余裕を見た狭いスリット幅の設定を行なえるような分光光度計を選択して測定しなければならない。

6.2 吸収セル

吸光度を正しく測定するとき、セルに汚れや傷がないことはもちろんであるが、その他に吸収セルに関して注

意しなければならないのはセルの偏角である。

市販のセルは、光路長 10 mm に対して、 ± 0.02 mm 程度の保証をしているので、0.2% の精度であるが、問題は偏角である。すなわちセルの入射側窓板と出射側窓板が完全に平行なら問題ないが、偏角にして 5 分以内というのが通常のセルの保証値であり、この値は十分に小さな値とは言えない。

偏角があると Fig. 14 に示すようにセルが無い時にくらべて光束がシフトする。光束がシフトすると検出器の受光面で光束のあたる位置がずれることになり、受光面に感度ムラがあると、それがそのまま測定誤差になる。100% あわせを行なったのと同じセルで試料の測定を行なう場合は比較的問題は少ないが、それでも光の透過方向を逆にしないように十分注意してセルをセットするなどの注意が必要である。

6.3 ガラス試料の測定

溶液試料では比較的問題にならないが、ガラスフィル

Fig. 14. 試料の偏角による光束のずれ

タなどの固体試料の測定の際に問題となる事項に多重反射の問題がある。

固体試料の場合、100% あわせは、試料室に何も置かずに行ない、その後、試料をセットして測定することになるが、試料をセットすると試料室の前後の窓板と試料面との間で多重反射を生じて、透過率値がより高く測定されることがある。試料の測定精度をあげようと、試料面の平行度に気をつけ、試料室内での光束に対する角度も出来るだけ直角にセットしようとする、なおさら多重反射がひどくなることもある。試料室の前後の窓板を少し傾けてセットし、多重反射を防止するのが良いが、窓板がレンズで兼用されているときなどの場合は、完全解決はむずかしい。

もちろん、上記 6.2 項と同様に試料面の不平行性に起因する誤差も十分に考えられるが、これに対しては極力、感度ムラの少ない検出器を使用するか、積分球を使って受光面の感度ムラの影響を受けないような測定法を工夫する必要がある。

7. お わ り に

紫外可視分光光度計の最近の変遷について、内容的に浅く広くなりすぎた感もあるが、15年前の Vol. 19 の講座の内容と今回の内容が重複しないように、新しい技術を紹介したつもりである。

現状と問題点という観点からすると、最近話題になっている熱レンズ効果や光音響法などの高感度分析法にも言及すべきではなかったかと思われるが紙面の都合で割愛した。

参 考 文 献

- 1) 柴田和雄：スペクトル測定と分光光度計（講談社、1974）。
- 2) *Certification and use of acidic potassium dichromate solutions as an ultraviolet absorbance standard—SRM 935*; NBS SPECIAL PUBLICATION 260-54.
- 3) 可視・紫外分光光度計の性能表示方法；JAIMAS 0001-1982.
- 4) 吸光光度分析のための通則；JIS K-0115-1983.
- 5) 秋山 修：島津評論 Vol. 40 No. 2・3, 29 (1983); ガラス試料の精密分光透過測定法。