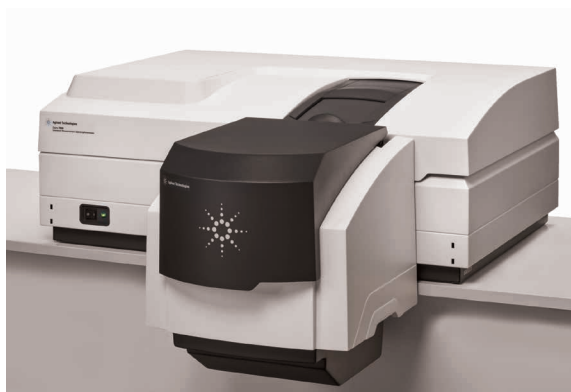


Agilent Cary 7000 多角度可変自動測定 分光光度計 (UMS) による 測光範囲 10 Abs の高度な光学密度の測定



高減衰光学フィルタを正確に測定

高遮光性フィルタは、重要な光学制御部品として幅広く用いられています。高減衰（高光学密度）フィルタは、レーザー保護メガネなどの保護用品のほか、光学システムにおいて最適な波長で感度を向上させる精密な低光レベル制御にも用いられます。この技術概要では、このような物質の測定における Cary 7000 UMS の性能について説明します。採用した手順では、公称値（ただし正確には知られていない値）の光密度のフィルタを選択して使用し、分光光度計の測光性能を検証しました。フィルタ追加法を用いることで、測光範囲、精度、直線性が可視領域で10 Abs 以上、近赤外（NIR）波長領域で8 Abs 以上であることが実証されました。

はじめに

高光学密度（吸光度）の測定は、急速に拡大するバイオフォニクス分野や、高品質サングラスの製造などのアプリケーションに携わる科学者やエンジニア、メーカーにとって、きわめて重要です。高光学密度の測定が重要となる他の分野としては、バンドパスフィルタ、ブロッキングフィルタ、カットオフフィルタの設計・製造・バリデーション、過マンガン酸カリウム [1] などの吸光度の高い溶液の定量分析やシトクローム P450 [2] などを含む濁度サンプルの測定などがあります。このような高光学密度サンプルの正確な測定において重要となるのは、使用する分光光度計の測光精度、直線性、ダイナミックレンジです。

光学密度や濃度が上昇するにつれ、分光光度計がどれだけ正確に吸光度を測定できるかは光学的直線性で決まります。機器の直線性が悪いと、例えば、吸光度が高い場合に検量線が直線から外れる可能性があり、高光学密度測定の精度が低下します。直線性に加えて測光精度も、分光光度計が光学密度や吸光度を正確に測定する能力に影響します。

測光精度と直線性は、正確かつ精密な測定が要求される場面では不可欠です。同様に、分光光度計が直線性を維持する範囲も重要です。これは直線ダイナミックレンジと呼ばれ、吸光度と濃度が互いに正比例する範囲と以前から定義されています [3]。ダイナミックレンジが広い直線範囲であれば、サンプルを幅広い濃度（光学密度）で測定でき、サンプルの分析時間や前処理（希釈）時間を大幅に短縮できます。前処理の時間は、サンプルを機器の性能範囲内で測定できるように、液体の場合は希釈、固体サンプルの場合は追加の（場合によっては破壊的な）変更を行うことによって生じるからです。

本研究では、光学フィルタの製造に用いられる材料の光学密度を可視および近赤外スペクトル領域で測定しました。フィルタ追加法により、測光範囲、精度、直線性が可視領域の約 640 nm で 10 Abs 以上、近赤外領域の約 1500 nm で 8 Abs 以上であることが確認されました。

理論

「フィルタを追加する」方法により、高価な校正用標準試料を使わずに、分光光度計の測光直線性と測光範囲を簡単かつ低コストで測定することができます。電磁スペクトルの可視領域に適用するこの方法の詳細は、参考文献 [4] で紹介されています。今回の分析では、可視領域および近赤外領域にこの原理を適用し、サンプル分析に先立って測光性能を確認しました。リアビームアッテネータ（RBA）を必要に応じて用いました。

サンプルビームの入射光の減衰が大きい場合、検出器上でサンプルのシグナルとリファレンスのシグナル（または光強度）のバランスを取るために、リアビーム減衰（RBA）により装置のダイナミックレンジを拡大する必要があります。RBA が用いられるケースとして、光学密度フィルタの測定、光線を減衰させるサンプルホルダーまたはアクセサリを使用する場合のビームバランス、または（一般に）吸光度の高いサンプルの測定などがあります。次に示すタイプのメッシュフィルタか、あるいは全自動の Cary リアビームアッテネータ [5] を用いることで、RBA に対応することができます。

測定

可視領域における測光範囲を調べるために、減衰メッシュフィルタを取り付けた BG25 フィルタを追加して測定しました。

収集手順は次のとおりです。リアビームに 4.5 Abs 減衰を設定しました。ベースラインを、1 秒の短いスペクトル平均化時間で測定しました。次に、BG25 と減衰メッシュフィルタを別々に測定しました。次に、スペクトル平均化時間を 50 秒に延ばし、ビームをブロックした測定を行った後、BG25 フィルタと減衰メッシュフィルタを一緒に測定しました。すべての測定は、透過率 (%T) で行いました。測定ごとのフィルタの位置と移動には、特に注意を払いました。

次に、ビームをブロックした測定値をすべてのフィルタ測定値から差し引き、結果を吸光度単位に変換しました。BG25 フィルタと減衰メッシュフィルタの各スペクトルを加算し、すべてのフィルタを一緒に測定した場合の予測スペクトルを算出しました。収集パラメータを表 1 に示します。

表 1. 可視域でのフィルタ追加測定に使用されるパラメータ

パラメータ	値
データ間隔	1 nm
スペクトルバンド幅	5 nm
スペクトル平均化時間	1 秒または 50 秒
リアビームアッテネータ	4.5 Abs
測定モード	ダブルビーム
スリット高さ	フル

Cary 7000 多角度可変自動測定分光光度計

同様のプロトコルで、2つのUG 11 フィルタを追加して近赤外領域の測定を行いました。パラメータを表2に示します。

表2. 近赤外域でのフィルタ追加測定に使用されるパラメータ

パラメータ	値
データ間隔	4 nm
スペクトルバンド幅	可変
エネルギー	1.0
スペクトル平均化時間	1秒または10秒
リアビームアッテネータ	2.2 Abs
測定モード	ダブルビーム
スリット高さ	フル
検出器	PbSmart 硫化鉛 (PbS)

結果と考察

図1に、可視域におけるフィルタ追加測定の結果を示します。実測値（赤のスペクトル）と予測値（緑のスペクトル）で優れた相関性が見られ、640 nm 付近における最大吸光度は 10 Abs を超えています。フィルタを組み合わせた場合の測定では、良好な S/N 比が得られています。この結果は、Cary 7000 UMS の性能が高く、最大吸光度近くのみわめて低い光レベルも検出できることを示しています。

図2に、近赤外域におけるフィルタ追加測定の結果を示します。実測値（赤のスペクトル）と予測値（緑のスペクトル）で優れた相関性が見られ、約 1500 nm における最大吸光度は 8 Abs を超えています。

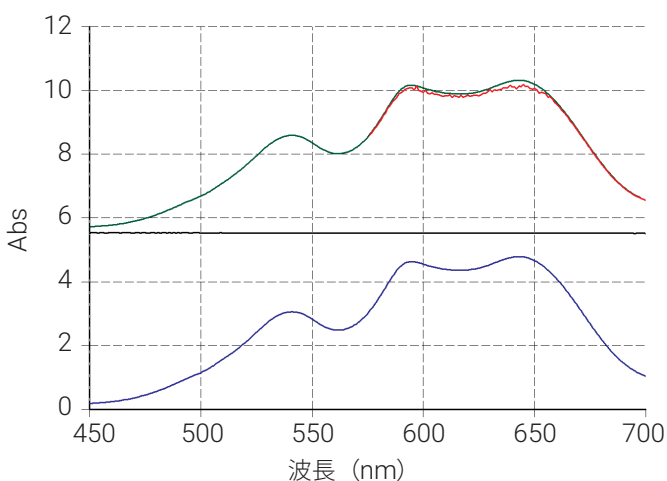


図1. BG25 フィルタ（青）、減衰メッシュフィルタ（黒）、BG25 フィルタと減衰メッシュフィルタの組み合わせ（赤）のスペクトル。緑のスペクトルは、青および黒のスペクトルの追加に基づく予測値を示しています。

Cary 7000 UMS と Cary 5000 UV-Vis-NIR は、PbS NIR 検出器に PbSmart 技術を用いている市場で唯一の機器です。PbSmart は、Agilent PbS 検出器を制御する独自の技術です。優れた迷光および光学設計と組み合わせることで、業界屈指の NIR 性能が得られます。他の市販の機器は、広帯域 InGaAs 検出器を採用して近赤外域においてより広い直線ダイナミックレンジを実現していますが、Cary 7000 UMS および Cary 5000 システム設計では、より広い波長範囲の PbSmart PbS 検出器でこれを実現しています。アプリケーションの要件が近赤外域で 8 Abs を超える場合、狭帯域 InGaAs 検出器とこの検出器用に調整された回折格子を使用する Cary 6000i 分光光度計によって、そのニーズに対応することができます。

今回のフィルタ追加実験は網羅的なものではありませんが、この分光光度計が優れた測光精度を備え、可視領域では 10 Abs、近赤外領域では 8 Abs を超える光学密度を正確に測定できることが確認されました。今回の結果は、この分光光度計が高光学密度を正確に測定できることを実証しています。

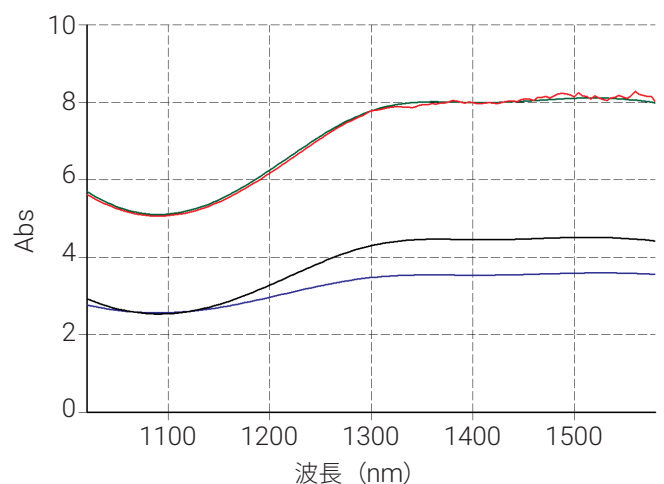


図2. UG11 フィルタ1（青）、UG11 フィルタ2（黒）、UG11 フィルタ1 および UG11 フィルタ2 の組み合わせ（赤）のスペクトル。緑のスペクトルは、青および黒のスペクトルの追加に基づく予測値を示しています。

結論

フィルタ追加法を用いることにより、Agilent Cary 7000 多角度可変自動測定分光光度計の UV-Vis-NIR における優れた測光範囲、精度、直線性が実証されました。同じ機器を使用して、近赤外領域で 8 Abs 以上、可視領域で 10 Abs 以上の最大吸光度を持つサンプルのスペクトルを容易に取得することができました。

参考文献

1. 'The Linear Dynamic Range of the New Generation Cary 4000, 5000 and 6000i spectrophotometers', Data Sheet 5990-7836EN, www.agilent.com.
2. Josephy, D and Logan, D., 'A whole cell assay for spectroscopic measurement of recombinant cytochrome P450 expression in bacteria', UV-Vis- NIR At Work No.87, www.agilent.com.
3. Hind, A.R., 'To improvements in spectrophotometry', American Laboratory, 34(24) 2002 32.
4. 'Photometric Linearity Range of the New Generation Cary 4000/5000/6000i spectrophotometers', Data Sheet 5990-7843EN, www.agilent.com.
5. Cary Rear Beam Attenuator accessory, www.agilent.com

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2013
Printed in Japan, May 30, 2013
5991-2528JAJP