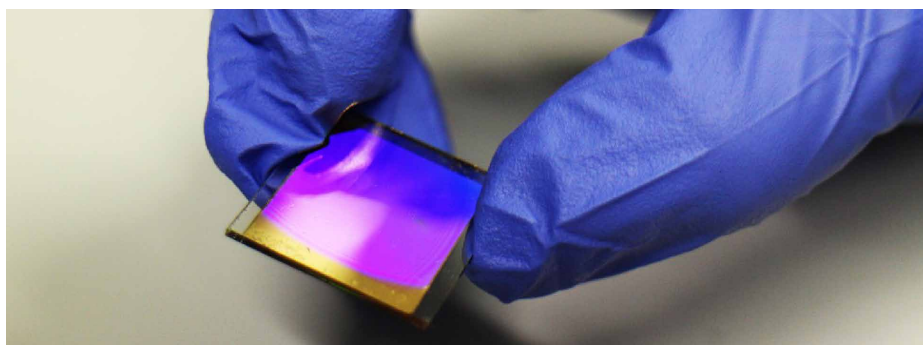


近赤外領域の迷光レベルに対する フィルタ構成、スペクトルバンド幅、 および光路長の影響

Agilent Cary 5000/7000 UV-Vis-NIR 分光光度計での
迷光レベルの評価



著者

Wesam Alwan, Travis Burt
Agilent Technologies, Inc.

概要

迷光は定量測定の精度に影響を与える可能性があるため、その定量化は分光光度計の性能を評価する上で重要な側面です。迷光は、指定された波長以外の波長の光が検出器に到達することと定義されます。

Agilent Cary 5000 UV-Vis-NIR および Agilent 7000 多角度可変自動測定分光光度計 (UMS) の迷光レベルは通常、赤外線領域でクロロホルム (CHCl_3 , 2,365 nm) および水 (H_2O , 1,420 nm) フィルタを使用して測定されます。PbSmart で制御された Cary 5000/7000 分光光度計への新しい PbS 検出器の導入の一環として、新しい迷光サンプルが使用できるようになりました。ジブロモメタン (CH_2Br_2 , 1,690 nm) は、近赤外 (NIR) 領域の迷光レベルを評価するのに適した液体ベースの光学フィルタです。

分光光度計の NIR 領域での迷光テストの結果に対するフィルタの構成、光路長、および帯域幅の影響を、ジブロモメタン、クロロホルム、および水フィルタを測定することによって評価しました。

はじめに

迷光は、分光光度計の不正確さの原因です。具体的には、モノクロメータから出る特定の波長帯域以外の光を指します。分光光度計の光学素子の欠陥、回折効果、または汚染された内部部品によって、迷光レベルが増加する可能性があります。迷光は、分光光度計の外部にある光からも生成されることがあります。例えば実験室からの光が漏れて、サンプル・コンパートメントに入ったり、別の開口部から入ったりする可能性があります。

機器内の検出器は照射を受けると、測定する光源を区別しません。すべての入射光が測定されます。測定された迷光には 2 つの成分があります。対象の帯域幅と波長の外側にある機器の光源からの光と、直接または単純な反射によって検出器に到達する周囲光です。

迷光は、特に高い吸光度で、測定された吸光度と濃度の間の直線関係に影響を与えるおそれがあります。高濃度で測定された吸光度値を低下させる系統的なバイアスを生じさせ (図 1)、定量データの不正確さと誤差につながります。迷光は測光選択性を低下させ、非線形の測光応答を生み出し (Beer-Lambert の法則からの逸脱)、これらの誤差の原因となります。

この技術概要では、迷光の測定値がフィルタの種類と方法によってどのように影響を受けるか、さらに機器ベースの欠陥による迷光誤差の原因について説明します。分光光度計の NIR 領域での迷光テストの結果に対するフィルタ構成、リアビームアッテネータの使用、光路長、および帯域幅の影響について調査しました。本研究では、Agilent Cary 5000 UV-

Vis-NIR 分光光度計を使用しましたが、検討結果は、Agilent 7000 多角度可変自動測定分光光度計にも当てはまります (図 2)。

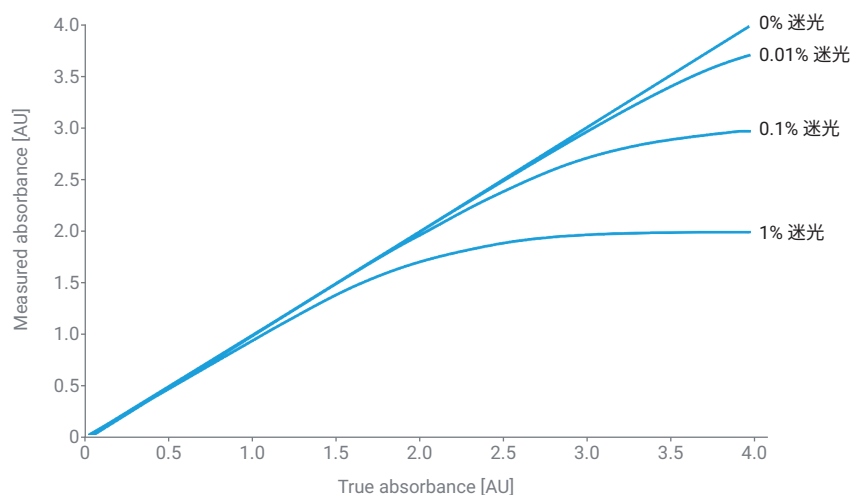


図 1. 測定されたサンプルの吸光度に対する迷光の影響



図 2. Agilent Cary 7000 UV-Vis-NIR 多角度可変自動測定分光光度計

迷光を定量化するのに最適なフィルタ構成

迷光を測定するには、フィルタが必要です。理想的には、フィルタは測定が実行される波長のすべての光を吸収し、より高い波長とより低い波長を透過するのが理想です (図 3)。この理想的なフィルタの 0 %T ポイントで透過率 (T) を測定しているときに光が検出されれば、その光はシステム内の迷光の測定値になります。

ただし実際には、そのようなフィルタは存在しません。代わりに、特定の波長より上または下の光を透過し、対象の波長範囲のすべての光を遮断するカットオフフィルタが使用されます。

迷光試験では、指定した波長範囲内では理想的に透過しない液体溶液を使用するため、検出器に到達する任意の光が迷光の存在を示します。塩化カリウム水溶液 (12 g/L)、ヨウ化ナトリウム水溶液 (10 g/L)、亜硝酸ナトリウム水溶液 (50 g/L) などの塩溶液は、それぞれ 198、220、および 340 nm の標準迷光フィルタとして使用されます (図 4)。NIR 領域の迷光レベルを評価するには通常、カットオフ波長がそれぞれ約 2,365 nm と 1,420 nm のクロロホルムと水の標準が使用されます。

機器ベースの迷光源

対象波長以外の波長の電磁波は、測定結果と干渉します。放射光は、機器内のさまざまな場所から発生する可能性があります。

- 分光光度計の筐体の隙間から差し込む光
- システム内の機械的表面からの光散乱
- 散乱光または回折光につながる可能性のある光学面の欠陥

- 機器のモノクロメータ、回折格子、および光散乱部分の光学部品の汚染
- 管理が不十分な機器内の黒体 (熱放射)
- 回折格子からの高次 (短波長) 反射をブロックするためにモノクロメータの入口で使用される低品質のオーダーソートフィルタ

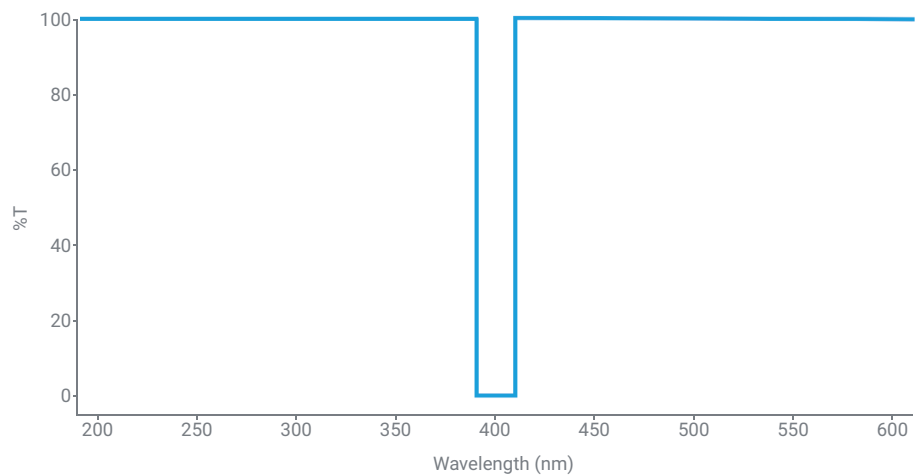


図 3. 迷光フィルタの理想的なスペクトル

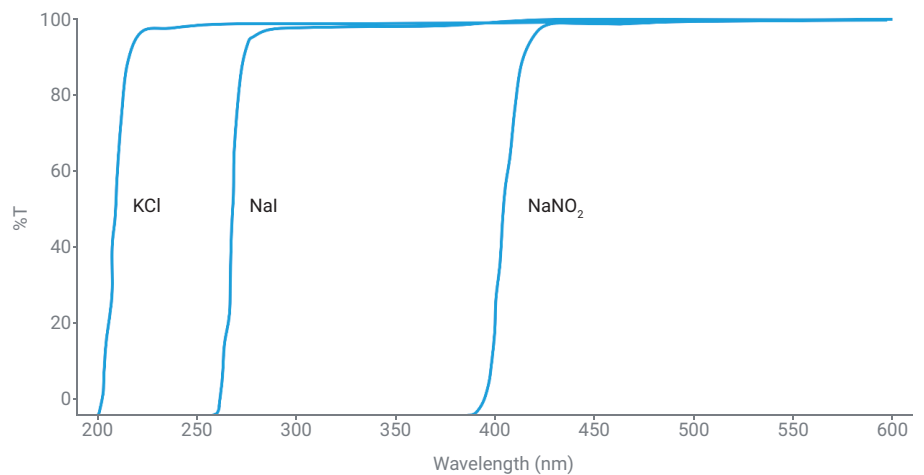


図 4. 塩化カリウム水溶液 (12 g/L)、ヨウ化ナトリウム水溶液 (10 g/L)、亜硝酸ナトリウム水溶液 (50 g/L) のスペクトル

実験方法

装置構成

NIR 範囲で Cary 5000/7000 UV-Vis-NIR 分光光度計の迷光レベルを評価しました。フィルタにはジブロモタン (CH_2Br_2) を用いました。このフィルタには、1,690 nm にノッチ (高吸光度) 波長があります (Sigma-Aldrich、CAS 番号 74-95-3)。迷光レベルを正確に測定するために、表 1 に示すようにメソッドパラメータを変更しました。パラメータには、スペクトル帯域幅 (SBW)、信号平均化時間 (SAT)、光路長があります。ジブロモタンフィルタを用いて、指定された波長 1,690 nm 付近でさまざまな光路長に対して得られたスペクトルは、迷光測定の理想的なスペクトルプロファイル (図 3) に類似したものでした。スペクトルにより、NIR での迷光測定においてジブロモタンが適切であることが確認されました。

本検討では、表 1 に記載されたパラメータを使用して、クロロホルムおよび水迷光フィルタも評価しました。クロロホルム (Starna Scientific Ltd.-RM- CHCl_3) および水ブランク (H_2O) フィルタを使用して、それぞれ 2,365 nm および 1,420 nm の迷光レベルを計算しました。

結果と考察

迷光値に対するフィルタ構成、SBW、および光路長の影響を調べました。最初に、ジブロモタンの指定された範囲にわたる波長スキャンを、10 mm および 50 mm の光路長セルを使用して実行しました (表 1)。2 つの光路長は、異なるスペクトルバンド幅でスキャンされ、このフィルタの迷光値に対する SBW の影響を示しています。

迷光の値を計算するには、100 %T、0 %T、およびフィルタ測定 of 3 つの測定が必要です。これらの値が得られたら、次の式を適用して迷光の値を推定しました。

$$\text{迷光 \%T} = ((\text{フィルタ \%T} - 0 \%T) / (100 \%T - 0 \%T)) \times 100$$

10 mm キュベットと 2 Abs RBA を使用すると、1,690 nm でのジブロモタンの迷光値は、6、8、12、16、20 nm SBW で、それぞれ 4.08E-04、5.48E-04、1.17E-02、3.40E-01、3.28E+00 %T であることがわかりました。

図 5 に示すように、より狭い SBW では、低い迷光レベルおよびより鋭いピークが観察されました。SBW を 6 nm から 20 nm に増やすと、予想どおり、より広いピークが観察されました。SBW を大きくすると、ピークのエッジからより多くの迷光が通過できるようになり、Abs レベルが低くなります (%T が高くなります)。

50 mm キュベットと 2 Abs RBA を使用すると、1,690 nm でのジブロモタンの迷光値は、6、8、12、16、20 nm SBW でそれぞれ 2.06E-04、1.83E-04、-9.20E-05、-7.70E-05、5.73E-04 %T であることがわかりました。負の迷光値は、図 5 および 6 に示すように、機器の検出限界 (ノイズフロア) に達していることを示しています。より長い SAT を使用すると、負の迷光値を回避できます。

表 1. ジブロモタン、クロロホルム、および水フィルタを使用して、Agilent Cary 5000/7000 UV-Vis-NIR 分光光度計で迷光レベルを評価するために用いたパラメータ

パラメータ	ジブロモタン (CH_2Br_2)	クロロホルム (CHCl_3)	水 (H_2O)
波長範囲 (nm)	1,660 ~ 1,720	2,345 ~ 2,385	1,380 ~ 1,440
信号平均化時間 (秒)	1	1	1
データ間隔 (nm)	1	1	1
スペクトルバンド幅 (nm)	6、8、12、16、20 (固定)	自動	自動
リアビームアッテネータ (RBA)	2 Abs メッシュフィルタ	3 Abs メッシュフィルタ	3 Abs メッシュフィルタ
キュベット	石英製	石英製	石英製
光路長 (mm)	10 および 50	10	10

低迷光レベルは、10 mm キュベットと 3 Abs RBA で水 (1,420 nm) およびクロロホルム (2,365 nm) フィルタを使用して測定しました。図 7 に示すように、迷光の値はそれぞれ 3.50E-05 %T と 2.13E-04 %T でした。

図 6 は、50 mm の光路長を使用して、中心波長 1,690 nm の SBW ± 15 nm で透過がシステムの迷光限界に近づくことを示しています。したがって、吸光度ピークのエッジがピーク値に影響を与えることなく、10 ~ 15 nm の SBW を使用できます。光路長が 10 mm の場合 (図 5)、範囲は±7 nm です。つまり、より狭い SBW を選択する必要があります。これにより、S/N 比が低くなるか、測定時間が長くなります。

検出器の飽和を回避しながら、または迷光を見積もりながら、有効な光路長とスペクトルバンド幅を使用することが重要です。信号の平均化時間は、低ノイズ (負の %T 値を回避) と正確な迷光値を得るために、機器の性能に応じて調整する必要があります。

迷光レベルを推定する適切な方法を選択する際には、ノイズや測定時間の影響を受けない結果の再現性を主な選択基準にする必要があります。さまざまな設定で得られたジプロモメタンの迷光値を表 2 にまとめます。

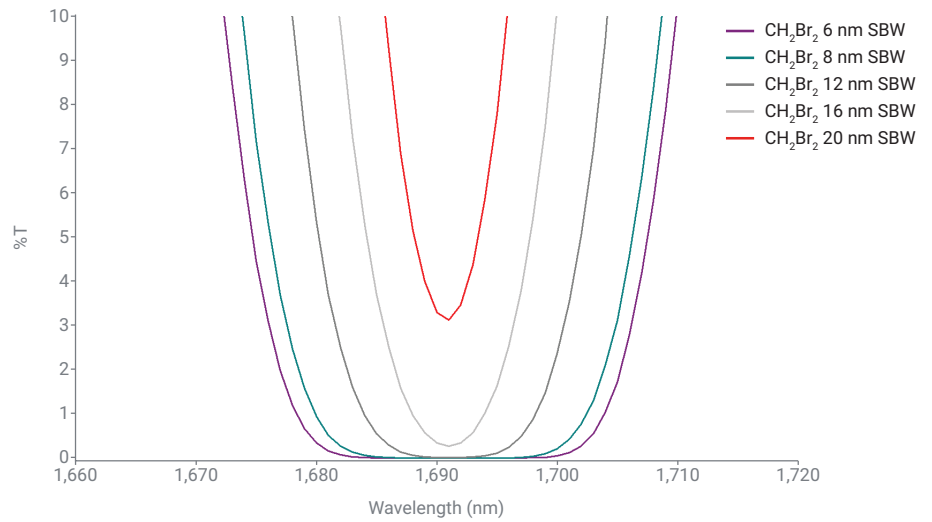


図 5. 10 mm キュベット、2 Abs RBA、さまざまな SBW (6、8、12、16、および 20 nm) を用いて測定したジプロモメタンのスペクトル

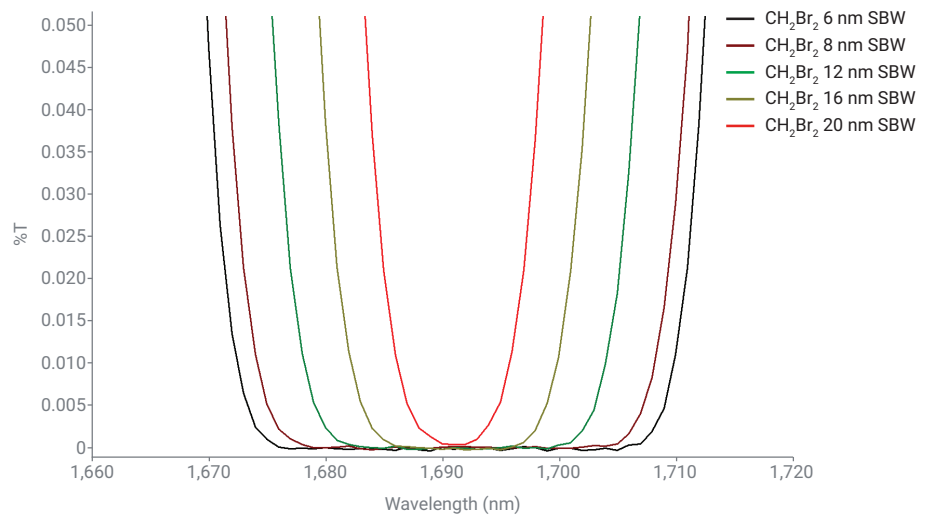


図 6. 50 mm キュベット、2 Abs RBA、さまざまな SBW (6、8、12、16、および 20 nm) を用いて測定したジプロモメタンスペクトル

表 2. さまざまな設定で得られたジプロモメタンの迷光値

エントリ	光路長 (mm)	リアビームアッテネータ	スペクトルバンド幅 (nm)	波長 (nm)	迷光 (%T)	迷光 (Abs)
1	10	2 Abs	6	1,690	4.08E-04	5.38
2	10	2 Abs	8	1,690	5.48E-04	5.26
3	10	2 Abs	12	1,690	1.17E-02	3.93
4	10	2 Abs	16	1,690	3.40E-01	2.46
5	10	2 Abs	20	1,690	3.28E + 00	1.48
6	50	2 Abs	6	1,690	2.06E-04	5.68
7	50	2 Abs	8	1,690	1.83E-04	5.73
8	50	2 Abs	12	1,690	-9.20E-05	NA
9	50	2 Abs	16	1,690	-7.70E-05	NA
10	50	2 Abs	20	1,690	5.73E-04	5.24

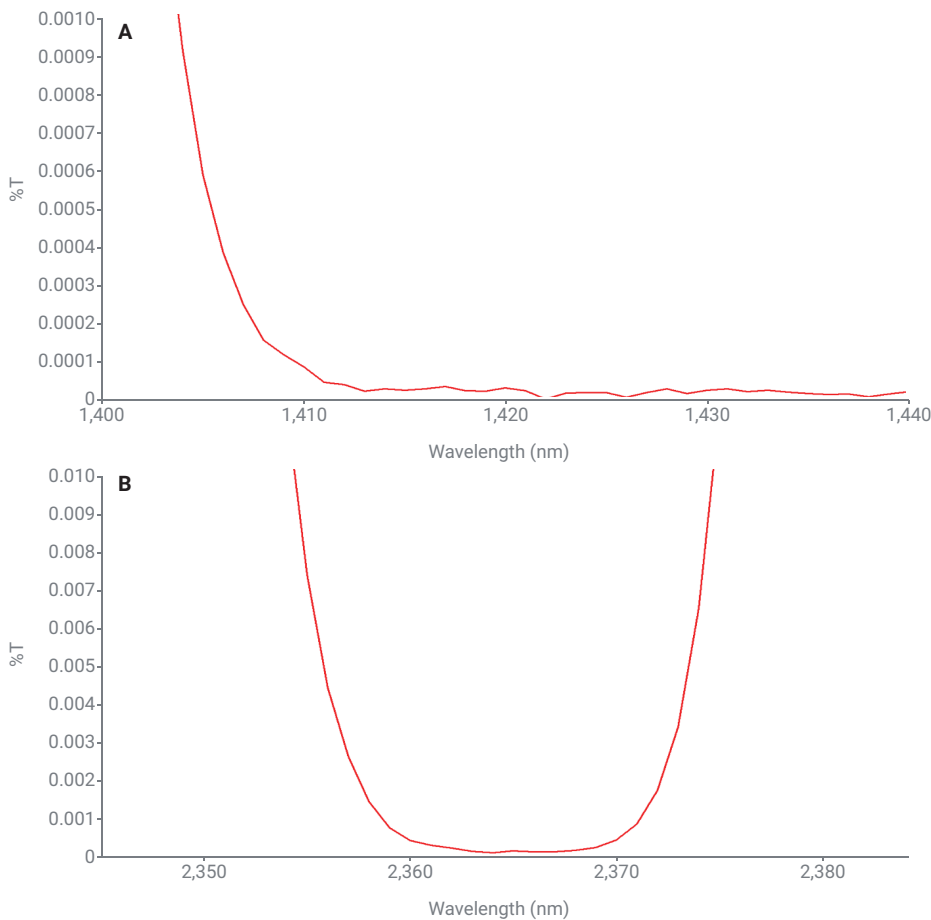


図 7. 10 mm キュベット、3 Abs RBA、および自動 SBW を使用して Agilent Cary 5000/7000 で測定された NIR 迷光フィルタのスペクトル。(A) 水 (1420 nm)、(B) クロロホルム (2365 nm)

結論

UV-Vis-NIR 分光光度計の迷光測定値に影響を与える多くの要因を示しました。これらの要因には、光路長やスペクトルバンド幅、フィルタ構成、機器欠陥などがあります。迷光レベルが高いと、吸光度の読み取り値の低下、スペクトルバンドの形状変化、最終的には機器で測定可能な最大吸光度の低下につながる可能性があります。

ジプロモメタン、クロロホルム、および水フィルタを使用して評価したところ、Agilent Cary 5000/7000 分光光度計は NIR 領域で低い迷光レベルを示しました。迷光レベルが低いため、光学密度 (OD) が高いサンプルなど難しいサンプルでも、品質の高い正確な結果が得られます。

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタムコンタクトセンター

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いません。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。

DE14126734

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2022
Printed in Japan, June 6, 2022
5994-4982JAJP