

分光測定の基本と応用

ビー・エー・エス株式会社
アプリケーション課 蔣 桂華

1. 分光法とは

以前の分光法は、可視光の放出あるいは吸収を研究する分野でした。光が電磁波の一種だと判明した19世紀以降は、ラジオ波から光、X線、 γ 線まで、広く電磁波の放出あるいは吸収を測定する方法を分光法と呼ぶようになりました。光は波長が1mmから2nm程度のものを指し、波長域によって赤外線・可視光線・紫外線に分けられます。また、光の発生または吸収スペクトルは、物質固有のパターンと物質質量に比例したピーク強度を示すために物質の定性あるいは定量に、分析化学の手法として広く利用されています。

2. 分光測定装置

分光法の測定装置は、大別すると光源、試料室、分光器、検出器の4つの部分から構成されます。近年は分光器の小型化に伴い分光器と検出器を一体化したケースが多く見られます。赤外光・可視光・紫外光はキセノンランプやハロゲンランプ、重水素ランプなどから発生させます。分光部と検出部の構造は、分光対象とする波長によって大きく異なります。ビー・エー・エスで開発したSEC2000スペクトロメーターシステムを例にご紹介します。図1にはSEC2000の構成を示します。光源、セルホルダーと分光検出器の三部分から構成されます。光源にはハロゲンランプと重水素ランプ(UV/VIS分光器)が使用されます。

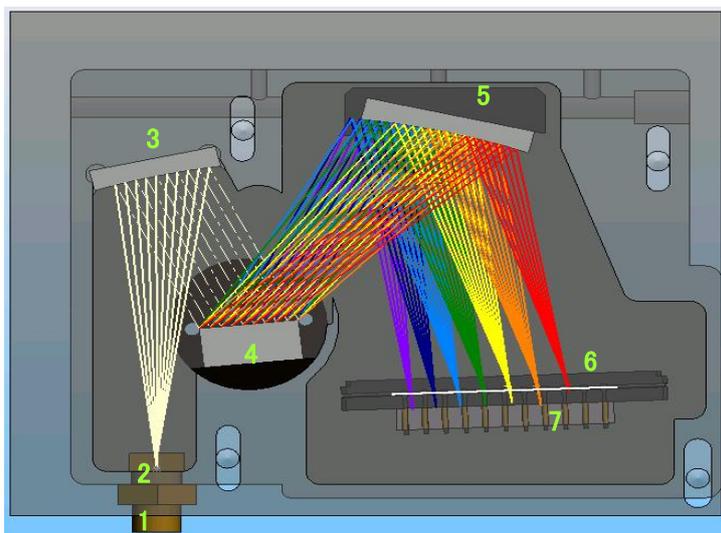


図1. SEC2000スペクトロメーターシステム光源と分光器はセルホルダーを中心に180度(左図)または90度(右図)にセットできる

最も一般的な分光法は吸収分光(吸収率・透過率測定)、発光分光(蛍光・発光測定)、散乱分光(反射測定、ラマン散乱)などです。SEC2000では、吸収、透過、反射と発光の測定それぞれができます。

3. 分光器の構造と分解能

SEC2000 分光器の構造を図 2 に示します。光は、入射口 1 とスリット 2 から入り、コリメーティングミラー 3 によってグレーティング 4 に光を照射し、分光された光はフォーカスミラー 5 によって集光レンズ 6 に照射し、最後に CCD アレイ 7 によって目的波長の光を検出します。



1. 入射口
2. スリット
3. コリメーティングミラー
4. グレーティング
5. フォーカスミラー
6. 集光レンズ
7. CCD アレイ

図 2. SEC2000 分光器の分光と検出器の構造

光学分解能は、分光器の性能を表す重要な指標の一つです。分解能は、半値全幅 FWHM (図 3 左) で表します。グレーティングの溝数、波長範囲及び入射口スリット幅と関係あります。SEC2000 の分解能はスリット毎に図 3 右に示します。スリット幅が大きいほど感度 (Intensity) は大きくなりますが、分解能が落ちます。表 1 は主な波長の分解能データです。

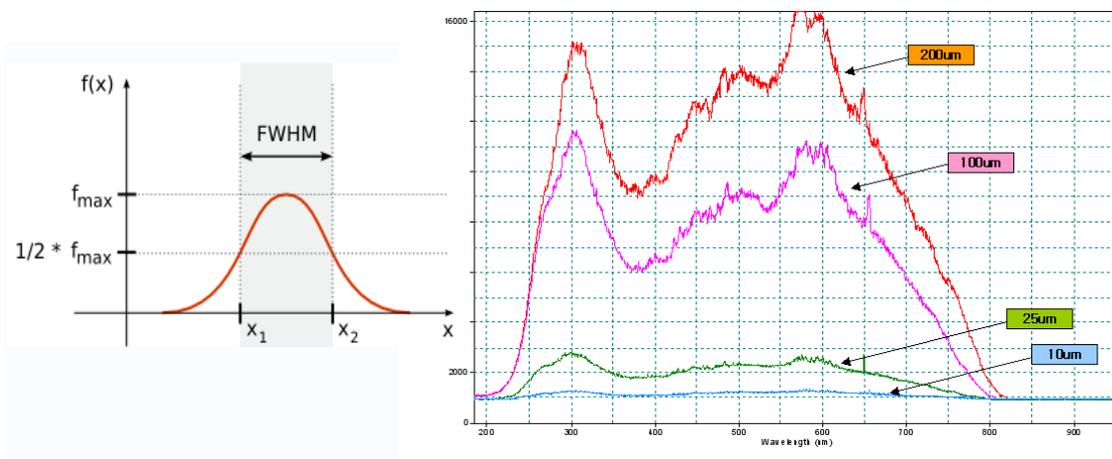


図 3. 左：半値全幅 (FWHM) ; 右：SEC2000 スリット幅別の分解能の波長分布

表 1. スリット幅別の主な波長における分解能

波長\スリット幅	200 μm	100 μm	50 μm	25 μm	10 μm
253.65 nm	4.92	3.30	2.10	1.46	0.87
365.01 nm	4.80	3.34	2.16	1.59	0.87
546.08 nm	4.57	3.27	2.07	1.87	0.86

4. SEC2000 スペクトロメータシステムを使用した測定

4.1. 吸収測定

連続スペクトルを持つ光がサンプルを透過する際にサンプルによる吸収のため連続スペクトルの各所に暗い部分が現れます。これを一般に吸収スペクトルと言います。SEC2000の分光器と光源を用いて、浸漬プローブを測定する目的物質の中に入れることで、サンプリングすることなく、直接吸収を測定することができます（図 4）。図 5 はルテニウム錯体の吸収スペクトルです。サンプルに直接浸して測定しますので、面倒なサンプルの調整が不要です。

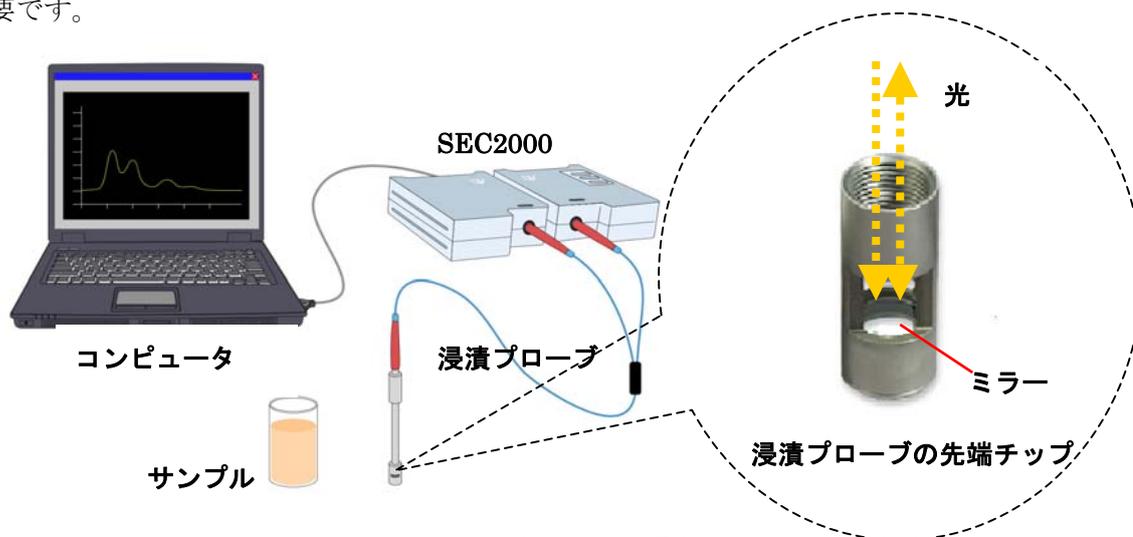


図 4. SEC2000 と浸漬プローブを使用した吸収測定

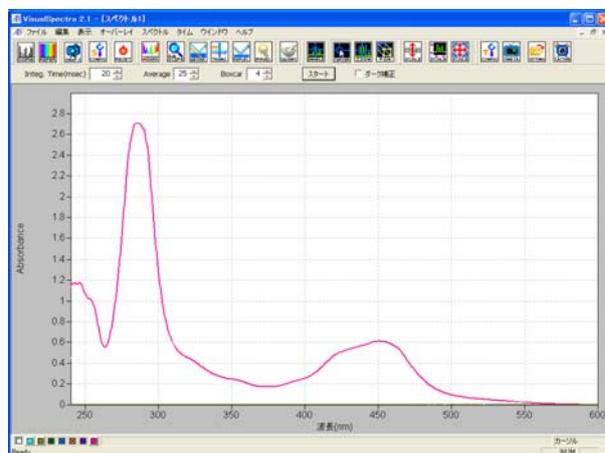


図 5. 浸漬プローブを使用して測定したルテニウム錯体の吸収スペクトル

4.2. 反射測定

反射光測定プローブには光源からの光ファイバーと測定用の光ファイバーが埋め込まれており、専用のプローブホルダーで固定することで簡単に反射スペクトル測定ができます(図6)。色紙をサンプルとして、各色の反射測定の結果を図7に示します。

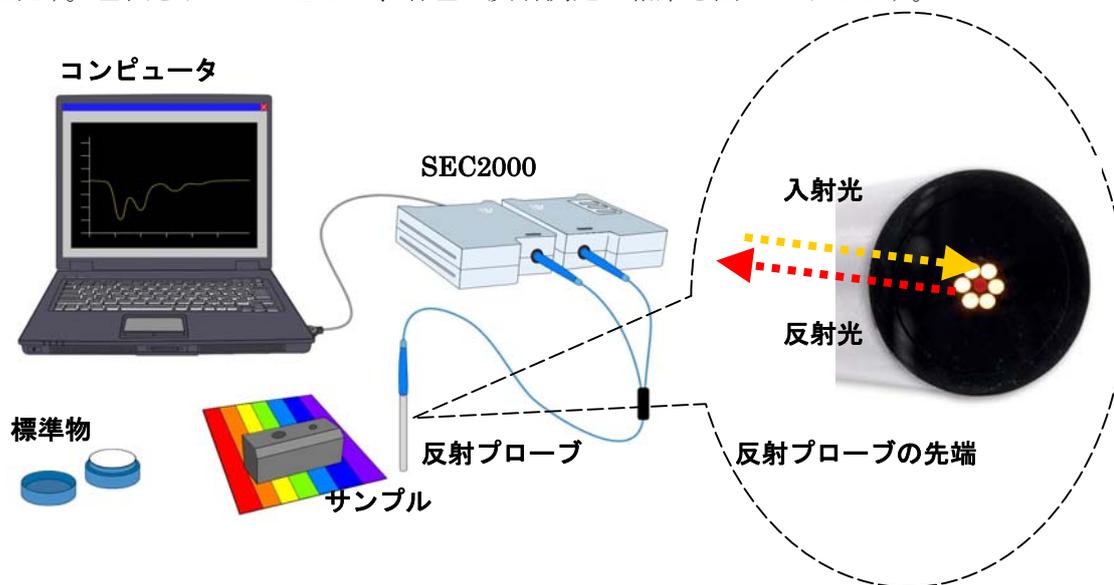


図6. SEC2000 と反射プローブを使用した反射測定

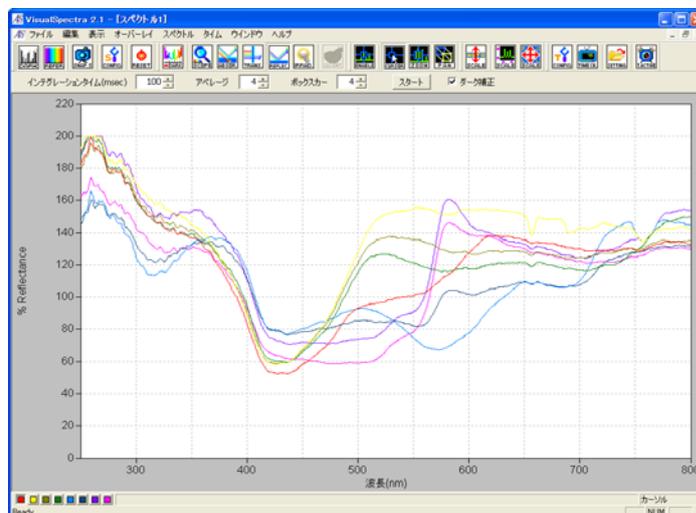


図7. 色紙の反射光スペクトル. スペクトルのライン色は色紙の色を表す

4.3. 蛍光測定

SEC2000 の分光器は他の励起光源と組み合わせて使用することができます。図8は励起光をサンプルに照射し、 90° の角度からサンプルの微弱な発光スペクトルを検出することで蛍光測定を行います。図9はローダミン6Gをサンプルとして、470 nm の LED 光源で照射した場合の励起光と蛍光を示します。

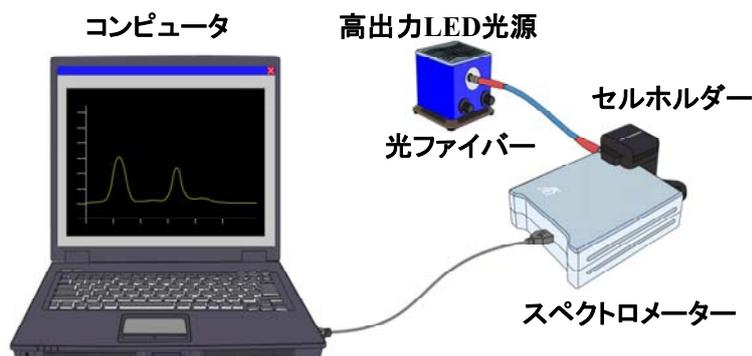


図 8. SEC2000 分光器と LED 光源を使用した蛍光測定

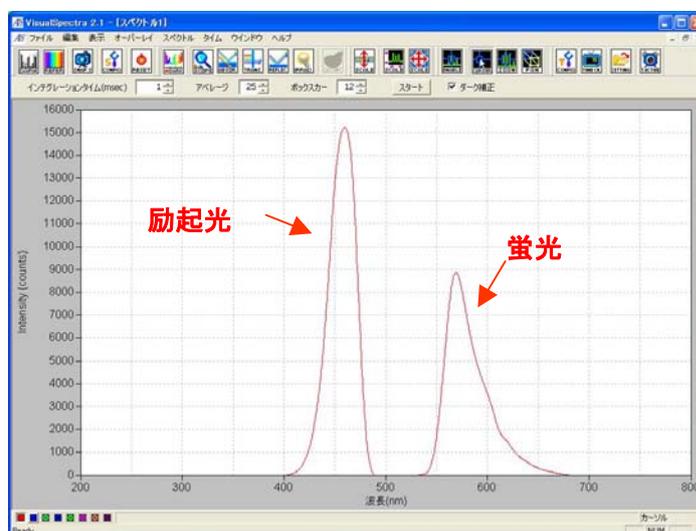


図 9. ローダミン 6 G の蛍光

5. 分光電気化学への応用

5.1. 分光電気化学法の原理

分光電気化学(Spectroelectrochemistry, SEC)は電気化学的測定法に分光学的測定法を同時に組み合わせた測定の総称です¹⁾。基本的な原理は、電気化学系と分光学的な分析法などを併用した測定系から構成され、電気化学的な情報と分光法からの情報を用いて、電極の表面や界面の様子を知るものです。

吸光電気化学法は電子構造に関する情報を与える紫外、可視領域で測定を行います。主に光透過性電極を用いた透過法で広く利用されてきました²⁾。その原理の詳細は専門書^{3, 4)}に記載されていますので、ここで簡単に説明します。

図 10 には基本的な概念図を示します。薄い石英セルに電解液を満たし、作用電極として透明電極 OTE(optically transparent electrode)またはグリッド電極(grid electrode)を組み込み、電極表面との垂直方向から光を照射して、透過光を受光素子で検出して吸光度を測

定します。溶液層を薄くする理由は溶液バルクの吸収を極力低減させるためです。電極近傍の化学種はその吸収波長と吸光度によって同定されます。

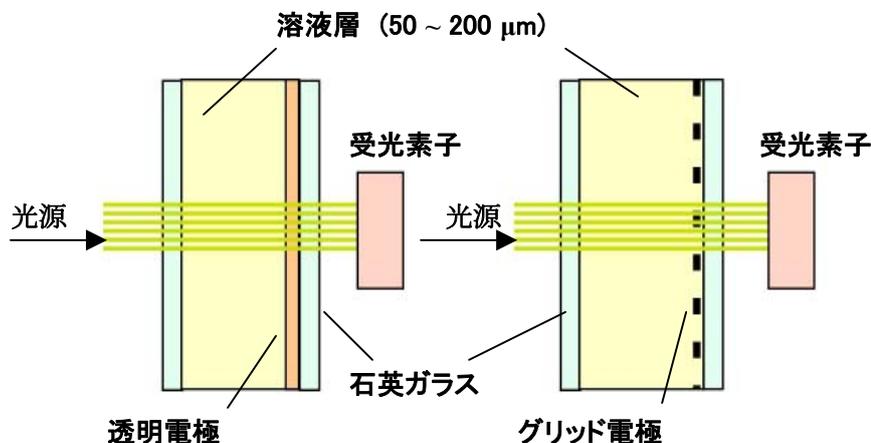


図 10. 分光電気化学測定概念図

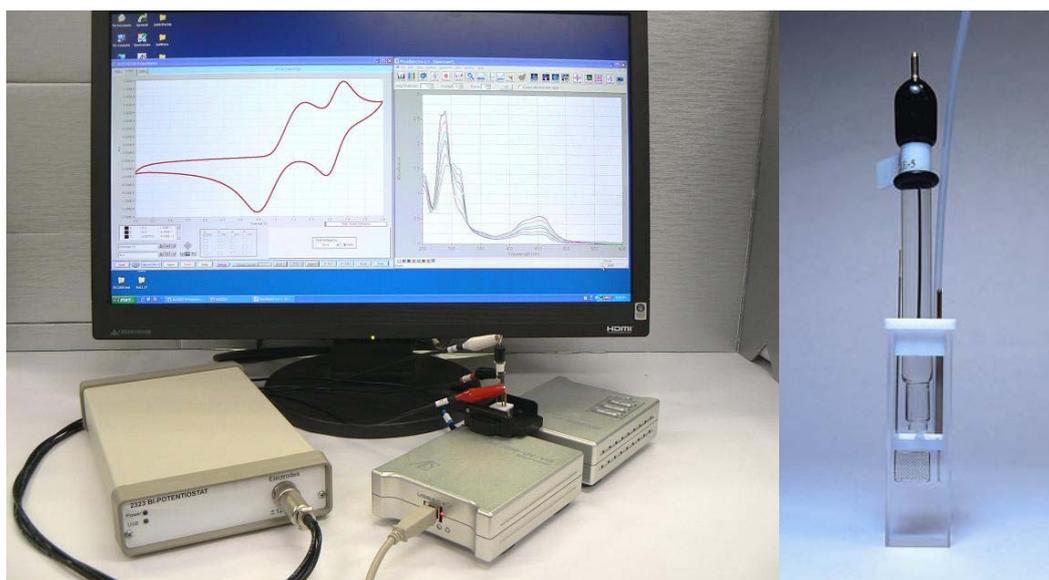


図 11. SEC2000 と 2323 を使用した分光電気化学測定システム (左)、SEC-C 石英セル (右)

5.2. 分光電気化学測定システム

分光電気化学測定システムは電気化学測定システムと分光測定システムで構成されています。図 11 はキューベット型の分光電気化学石英セル SEC-C を使用した場合のシステムです。石英セル、作用電極、カウンター電極とキャップから構成されています。石英セルの液層の厚みは 1 mm です。作用電極(Working Electrode, WE)は Au、Pt メッシュ電極を用います。参照電極(Reference Electrode, RE)は測定する目的物質により選択しますが、一般的

に、Ag や Ag/AgCl 電極を使用し、対極(Counter Electrode, CE)には白金線を使用しています。各電極はテフロン製キャップで固定しました。

図 12 はフロー型分光電気化学セル SEC-F を使用した場合のシステムです。

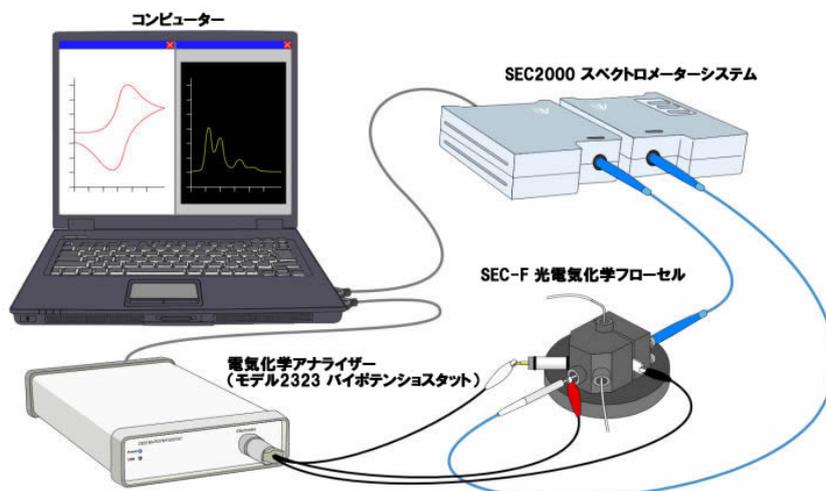


図 12. SEC-F 石英セル、SEC2000 及び 2323 使用した分光電気化学測定

5.3. 分光電気化学測定

分光電気化学測定は電極反応に関与する反応種、生成種及び中間体を電極近傍での *in situ* 測定法です。この方法によって得られる情報としては、反応種、生成種及び中間体の吸収スペクトルの他に、濃度、拡散係数及び寿命などの反応パラメーターが得られます。

- 吸光電気化学測定

一例として、SEC-C石英セルを用いて図 11 に示す方法で電極と分光器を接続し、2 mM のフェリシアン化鉄 ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$) の KNO_3 溶液を用いて CV 測定を行いながら光の吸光度測定を行います。フェリシアン化鉄 ($\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$) の酸化還元に伴うリアルタイムの吸光度変化を図 13 に示します。

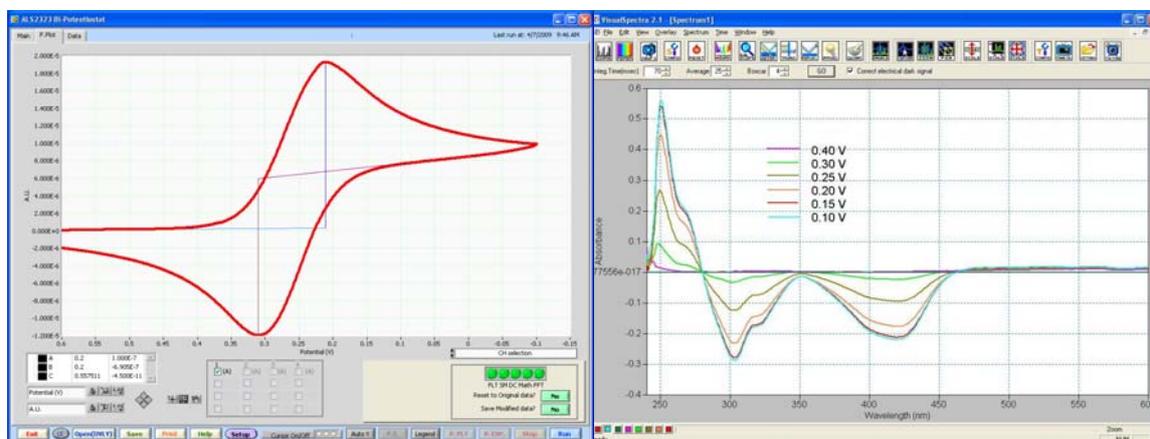


図 13. フェリシアン化鉄の CV 測定と吸光度変化のリアルタイムモニタリング

- 電気化学発光測定

分光電気化学測定システムを使用して電気化学発光を測定することも可能です。図 14 にはルテニウム錯体の CV 測定する時の発光を測定した結果を示します。微弱な発光ですが、しっかりと捕らえています。図 15 は発光ピーク波長の経時変化を追跡したものです。

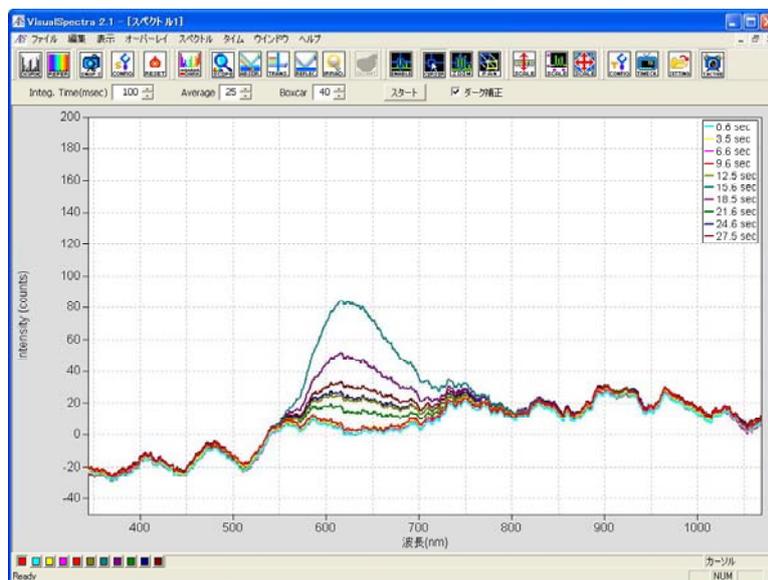


図 14. 金電極に修飾したルテニウム錯体の電気化学発光

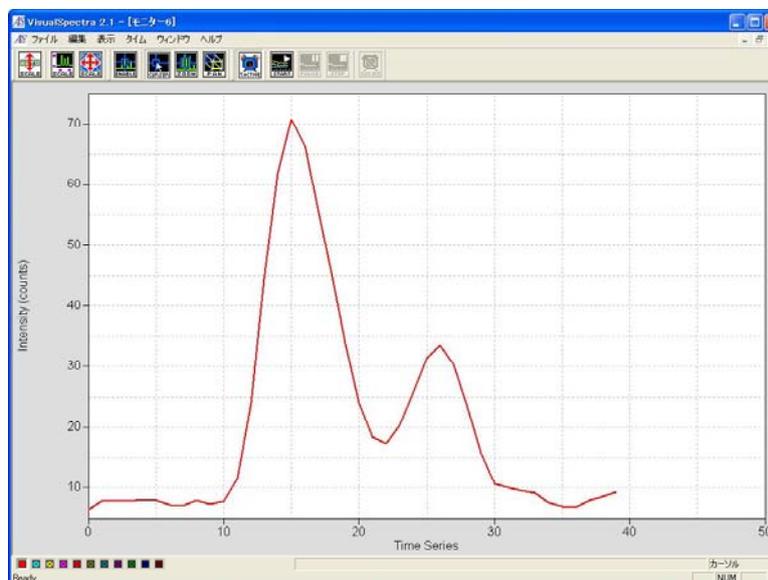


図 15. 600 nm における発光の経時変化

- 今後の研究

最近、W. Kiam and A. Kleinは”Spectroelectrochemistry” (Royal Society of Chemistry, 2008) の総説⁵⁾において、SECを使ったFeイオンタンパク質、金属ポルフィリン、酸化還元反応の研究が進むことを予測しています。また、Y. AstutiらによるTiO₂やSnO₂電極に

固定したHorse-radish peroxidaseの測定⁶⁾などが報告されており、SEC研究が盛んに行われると思われます。

6. まとめ

分光測定は基本的な分析方法の一つです。SEC2000 スペクトロメーターシステムを用いて、紫外・可視・近赤外域で、一般の吸収・反射・発光測定が行える以外に、電気化学装置と組み合わせて、分光電気化学測定も可能です。分光電気化学測定では電気化学測定と分光測定の両方から情報が得られます。これにより、電気化学的に解析が困難な物質でも反応・生成物が分光特性を有している場合、酸化・還元電位は吸光度の大きさから算出できます。更に、電極系が平衡状態或いは定常状態の時、分光電気化学測定から静的状態での分子種の同定や分子構造・分子配向の解析等が可能です⁷⁾⁻⁹⁾。

参考文献

1. R. J. Gale Ed., Spectroelectrochemistry: Theory and Practice, Plenum Press, New York (1988)
2. C. H. Su, W. R. Heineman. Anal. Chem., 53, 594 (1983).
3. 藤島 昭、本多健一、「電極反応の基礎」第3章、共立化学ライブラリー6、共立出版(1973).
4. 藤島 昭、相澤益男、井上 徹、「電気化学測定法」第14章、ありのままの電極表面をとらえる、技報堂出版(1984).
5. Spectroelectrochemistry: Edited by Wolfgang Kaim (University of Stuttgart, Germany) and Axel Klein (University of Cologne, Germany). Royal Society of Chemistry: Cambridge. 2008.
6. Direct spectroelectrochemistry of peroxidases immobilised on mesoporous metal oxide electrodes: Towards reagentless hydrogen peroxide sensing, Anal Chim Acta 648 (2009)
7. 大澤雅俊, 分光研究, 42, 127 (1993).
8. T. Sagara, M. Fukuda and N. Nakashima, J. Phys. Chem., B, 102, 521 (1998).
9. T. Sagara, N. Kaba, M. Komatsu, M. Uchida and N. Nakashima, Electrochim. Acta, in press.

