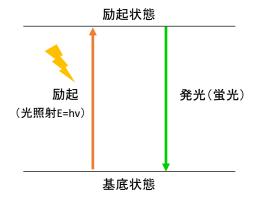
蛍光分光光度計について

物質に光を照射すると、光を吸収しエネルギーの高い不安定な状態(励起状態)になる。通常は熱としてエネルギーを放出して安定状態に戻ろうとするが、ある一定の構造を有する分子においてはエネルギーを再び光として放出するものがある。これらの遷移が同じ多重度間で起こる場合、このような分子を蛍光物質といい放出される光を蛍光という。この光を検出器に受けて定性や定量を行う装置を蛍光分光光度計という。



装置

装置は光源、励起側分光器、試料室、蛍光側分光器、検出器および信号処理装置よりなっている。 キセノンランプ光源から放射された光を励起側分光器で分光し、得られた励起光を試料に照射する。 試料から発せられる蛍光は分光器で分光されてホトマル(光電子増倍管)で検出され、波長に対する 蛍光強度が測定される。試料セルには四方向が透明なもので、無蛍光の石英セルが一般に用いられる。

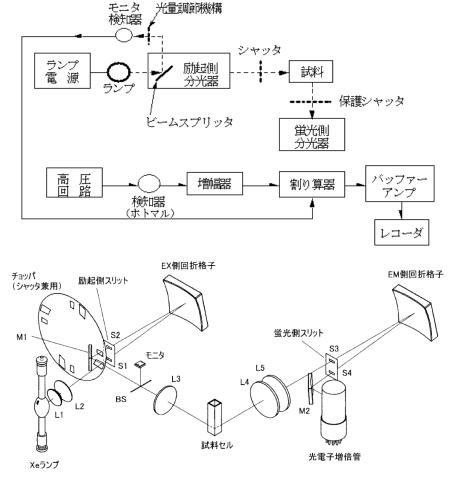


図: 蛍光分光光度計の装置の構成

1

励起スペクトル・蛍光スペクトル

励起スペクトル:

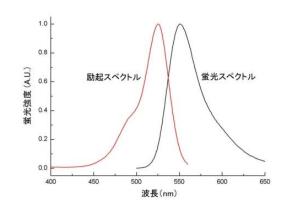
検出する蛍光波長を固定し、励起光の波長を走査して蛍光 強度を測定したもの。

ピーク強度が最大になる波長が最適励起波長になる。

蛍光スペクトル:

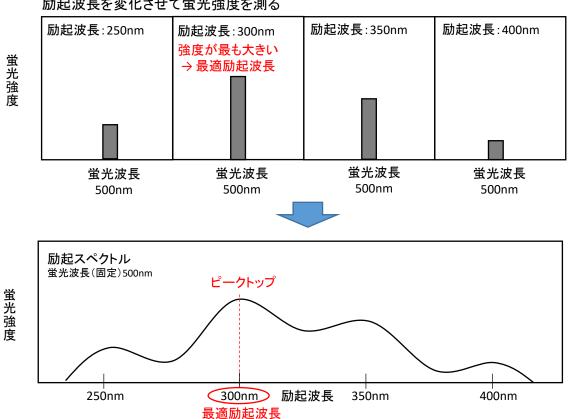
励起光の波長を固定し、蛍光強度を測定したもの。 最適励起波長の光を使って測定する。

励起スペクトルと蛍光スペクトルの波長位置: 蛍光スペクトルのピークは励起スペクトルのピークより長波 長側に出る。これは吸収したエネルギーの一部を熱などで失 うためである。



最適励起波長の決定方法

励起波長を変化させて蛍光強度を測る



蛍光分光測定の流れ

- ①試料の蛍光波長を調べる。(励起波長を200-300nm程度に設定して蛍光スペクトルを測定する。)
- ②得られたスペクトルから蛍光波長を読み取る。
- ③読み取った蛍光波長を固定して励起スペクトルを測定する。
- ④得られたスペクトルから最適励起波長を決める。
- ⑤決定した最適励起波長で蛍光スペクトルを測定する。

