

UV 測定法簡易マニュアル

How to use the UV-visible Spectroscopy System

分光光度計基本ソフトウェアオペレーション

簡易マニュアル

Agilent 8453

-参照-

横河アナリティカルシステムズ簡易マニュアル
機器分析の手引き

2003/02/14, Merii Kato

(原理)

-はじめに-

基底状態にある分子が可視・視外線の光エネルギーを吸収すると電子が遷移することによって励起状態の分子が生じる。吸収の強さは波長によって異なり、得られた吸収スペクトルは物質に特有のものである。この分析法を可視・視外吸収スペクトル法(UV-Vis スペクトル法)という。

-何が分かる？-

- 1) スペクトルから化合物の同定ができる。(逆に、不純物の存在等を推定できる。)
- 2) 定量分析ができる。

吸収の強さは物質の濃度に精度よく比例するので、高精度の定量分析ができる。また、これによって反応速度や平衡定数の測定を行うこともできる。

- 3) 電子状態が分かる。

スペクトルの特徴(吸収の位置、吸収強度、及びスペクトルの形)から、分子の電子状態や立体構造が推論される。

(セルについて。)

- ・石英セルを用いている。(これは高価なので、取り扱いには注意する。)
- ・透過面には指紋などをつけない。
- ・使用後はすぐに、用いた溶媒で洗浄する。水に不溶の溶媒の場合は、更にアセトンやメタノールで洗うのが望ましい。それでも汚れがついた場合は、専用の洗剤を用いて洗う。

(溶媒について。)

測定する波長領域に、溶媒の吸収が少ないことが必要である。

-各溶媒の測定可能な最短波長-

波長(nm)	溶媒
200	蒸留水, アセトニトリル, シクロヘキサン
220	メタノール, エタノール
290	ベンゼン, トルエン
335	アセトン

*揮発性が高い溶媒を用いる時は、ふた付きのセルを用いること。

(サンプルの調整について。)

- ・試料溶液の濃度は、その溶液の吸光度 A が $0.25 \sim 0.7$ の範囲にあると測定精度がよいので、それにあわせる。
- ・溶液が濁っていると、測定誤差が生じる。
- ・溶液を吸収セルに入れるには、まずセルを溶媒で洗い、ついで試料溶液で洗った後に約八分目の高さまで溶液を入れる。試料溶液がこぼれた場合は、キムワイプでふく。

~装置について~

(光源)

紫外線(UV)波長領域(190nm~約 800nm) ; 重水素ランプ

可視及び近赤外線(SWNIR)波長領域(370nm~1100nm);タンゲステンランプ

この二つがセットされていて、波長に応じて切り換えて使用する。

(特徴)

- ・試料室が開放型のため、三方コックをつけた窒素下セルでの測定が可能。
- ・スターラーによる攪拌及びデュアー瓶を用いての低温下での測定が可能。
- ・0.5 秒おきの Rapid スキャンが可能。

-Mode について。 -Agilent 8453 には、以下の Mode が存在する。

Standard; 通常の測定に用いる。

Advanced; RapidScan が可能。

Kinetics; 自動的に反応速度式を求めることが出来る。

*Thermal Denaturation 及び Verification and Diagnostics については使用不可。

~操作方法~

<起動>

- ・ まず PC の電源を ON(本体, モニター及びプリンターの三種類)
- ・ Log ON を行う。(pass word; 3000hanover を入力)
- ・ **CAG Bootp Server** が PC 下部でシステムタスクバーとして実行されていることを確認し、それをクリックする。
- ・ 光路を妨げないようにセルがはずされていることを確認した後、測定機械本体の電源(装置の左下)を ON する。(これで 30 秒間の self check が自動的に始まる。)

装置前面のランプが緑色に点灯する。

-緑, 点灯 装置が測定可能

-緑, 点滅 装置が測定中

-黄色, 点灯 分光光度計が準備中

-赤, 点灯 or 点滅 エラー(詳細は別紙マニュアルへ)

*ソフトウェアが分光光度計を認識する必要があるので、必ずこの順番を守ること。

*分光光度計とランプの温度が安定するまでに約 15 分はかかるので、それまでは測定を行わないこと。更に、より精密な実験を行う場合は少なくとも 45 分は待ってから測定を開始すること。

*Error もしくはメンテナンス(1 か月に 1 度)の場合は

Mode; Verification and Diagnostics を選択し, Task; Dianosilics を選ぶ。

-Dark Current 暗電流

-Intensity ランプの寿命

重水素(700~1000hour)機器を使用しなくても消耗する。

タングステン(2000hour)機器を使用すれば消耗する。

- ・ **CAG Bootp Server**内に Agilent8453-1 という文字が表示されることを確認する。
- ・ **Instrument Online**をクリックする。
- ・ 使用者の名前を入力する。(pass word は入力しないこと。)
- ・ OK をクリックすると, 画面が立ち上がる。

<測定>

~Standard~

- ・測定を行う。

以下の点に注意する!

<セル>

気泡がないこと及びサンプルが濁っていないことを確認。

石英 cell を真っ直ぐ同じ向きで set する。

レバーをあげてセルを入れ, しっかり固定してからレバーを下げる。

<波長>

- ・測定波長は 190~1100nm であり, Set up で簡易設定が可能。オリジナルは, Instrument の Spectra chromometer で決定されている。ここは変更しない方がよい。

<Integration time>

通常は, 最小の 0.5

noise が多いときは, 1 等に増やす。(これによって積算が増える。)

<消去>

clear で消すことも可能。

-**Blank** reference になる。(次のブランク測定が行われるまで記憶されている。)

-**Sample** 試料の測定を行う。

-**Standard** 定量を行う際に, 標準試料の測定を行う。

-**Stop** 作業が中止される。

(以上の操作は, 本体のボタンを用いても行うことができる。)

Task について。

• Fixed Wavelength; 最大六波長での吸光度, 透過率, および 1 次 ~ 4 次微分データが得られる。

• Spectrum/Peaks; 極大, 極小波長を得られる。また, それらの吸光度も得られる。

-Good example-



~Advanced~

• Instrument Set up Spectrometer で設定を行う。

-Run time で total の時間を設定する。

-Cycle time でどのような間隔で行うかを定める。

(Integlation time に近い時間にするのが望ましい。)

-**Blank** reference になる。(次のブランク測定が行われるまで記憶されている。)

-**Sample** 測定が開始される。

-**Stop** 作業が中止される。

*設定時間の終了までスペクトルは表示されないので注意する。

~ Kinetic~

• Method Time&Calculation で, 測定したい波長と時間を設定する。

• 測定を行う前及び後に, Rate Calculation で速度式を選択することが出来る。

<データの保存方法 >

<Normal の場合;Mode に沿う>

File Save Sample as (英数字 8 文字)

<Text 形式の場合>

File Export CSV 形式を選択する

<データの編集方法 >

<縦軸の変更>

config Graphic Attribute of Selected Window

<画面上に文字を書く>

Edit Anotate

<終了方法 >

右上の×を押し, UV-chem station を終了させ, Program から Windows の終了を選択する。

*この方法で終了することが出来ない場合がある。そんな時は。

Control + Alt + Delete を一度におし, 表示された Window 上にある EndTask を選択し, 全てが終わっていることを確認。(終わっていない場合は, 終了させる。)そして, PC を終了させる。

<データのみを扱う場合 >

Program UV-chem station Instrument off lineで行う。

<低温装置を用いる方法 >

1, コントローラーメインスイッチを入れ, 設定温度を室温以上にする。(上が実際の温度, 下が設定温度を示している。)

2, DEFROSTER を常時 ON にしておく。(曇り止めのため。)

3, 本体とデュアー瓶がシリコンチューブで接

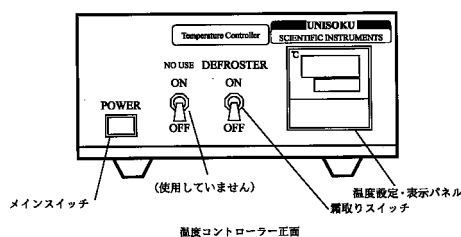
続されていることを確認し, デュアー瓶に液体窒素を入れる。この際, デュアー瓶がやや高い位置に設置されていること, 及び本体がぬれることを防ぐために下に布等がひいてあることを確認する。

4, アップキー, ダウンキーで設定温度を設定する。

*実際温度とは周りの温度であり, cell の温度ではないことに注意する。

*測定条件を記憶するような機能はないので, 必ず自分でメモしておく。

温度コントローラー



5、終了する際は、まず室温に設定を戻す。しばらくしてチューブが柔らかくなったら、専用クリップでこのチューブをつまみ温度コントローラーのメインスイッチを切る。

新しく結晶が得られた際に。。。

ϵ_{\max} の求め方 ~初心者編~

- 1, メスフラスコを用いて試料を溶かし, 濃度を求める。
- 2, Standard で通常とおり測定する。
- 3, 波長—吸光度スペクトルの各吸収での最高点の波長 (λ_{\max})と, その吸光度と試料濃度からランベルト・ベールの法則に各数値を代入し, 計算する。

-ランベルト・ベールの法則 -

吸光度 A は溶液層の厚さ l に比例し, 溶液の濃度 c に比例する。

$$A = \epsilon \cdot l(\text{cm}) \cdot c(\text{mol/l})$$

ϵ : モル吸光係数, 1mol/l の溶液 1cm を通過する時の吸光度

Rapid Scan でよりよい Data を得るための。。。

Advanced を用いた測定法 ~詳細編~

1, まず Standard で, 反応させる前の溶液の吸光度が 1 以下であることを確認する。(重要な波長部分がどれかを見極め, それが 1 より大きい場合は濃度を変化させる。)

2, Mode を Advanced に変更し, とりあえず適当な反応時間(Run time)及び時間間隔(Cycle time)を設定して反応を開始させる。

3,得られたスペクトルをもとに, まず反応がしっかり収束しているかを確認する。(線幅で確認できる。時間経過に対して広い場合は収束しておらず, 非常に狭くなっている場合は収束している。)収束していない場合は, 更に Run time を長くする。

4, 収束が確認できたら, 各スペクトル幅が均等になるように Cycle time を設定する。

(注意)

・測定を行う際には反応試剤をいれてからすぐに Sample を押したほうがよい。

-反応させる前の Standard のピークは, Mode を Advanced に変更しても表示されることから, そうしないと, 一番始めのピークが二本重なって表示されることになる。

-反応が非常に早い場合は, 押すまでの間のスペクトルを得ることが出来なくなる。