

1 2.22 蛍光光度法

2 次のように改める。

3 蛍光光度法は、蛍光物質の溶液に特定波長域の励起光を照射
4 するとき、放射される蛍光の強度を測定する方法である。この
5 方法はリン光物質にも適用される。

6 蛍光強度 F は、希薄溶液では、溶液中の蛍光物質の濃度 c
7 及び層長 l に比例する。

$$8 \quad F = kI_0 \phi \varepsilon cl$$

9 k ：比例定数

10 I_0 ：励起光の強さ

11 ϕ ：蛍光量子収率又はリン光量子収率

12 蛍光量子収率又はリン光量子収率

$$13 \quad = \frac{\text{蛍光量子又はリン光量子の数}}{\text{吸収した光量子の数}}$$

14 ε ：励起光の波長におけるモル吸光係数

15 1. 装置

16 通例、分光蛍光光度計を用いる。

17 光源としてはキセノンランプ、レーザー、アルカリハライド
18 ランプなど励起光を安定に放射するものを用いる。蛍光測定に
19 は、通例、層長1 cm×1 cmの四面透明で無蛍光の石英製セル
20 を用いる。

21 2. 操作法

22 励起スペクトルは、分光蛍光光度計の蛍光波長を適切な波長
23 に固定しておき、励起波長を変化させて試料溶液の蛍光強度を
24 測定し、励起波長と蛍光強度との関係を示す曲線を描くこと
25 によって得られる。また、蛍光スペクトルは、適切な波長に固定
26 した励起光を蛍光物質の希薄溶液に照射して得られる蛍光を、
27 少しずつ異なった波長で測定し、波長と蛍光強度との関係を示
28 す曲線を描くことによって得られる。必要ならば、装置の分光
29 特性を加味したスペクトルの補正を行う。

30 蛍光強度は、通例、蛍光物質の励起及び蛍光スペクトルの極
31 大波長付近において測定するが、蛍光強度は僅かな条件の変化
32 に影響されるので比較となる標準の溶液を用いる。

33 別に規定するもののほか、医薬品各条に規定する方法で調製
34 した標準溶液及び試料溶液並びに対照溶液につき、次の操作を
35 行う。励起波長及び蛍光波長を規定する測定波長に固定し、次
36 にゼロ点を合わせた後、標準溶液を入れた石英セルを試料室の
37 光路に置き、蛍光強度が60～80%目盛りを示すように調整す
38 る。次に、試料溶液及び対照溶液の蛍光強度(%目盛り)を同じ
39 条件で測定する。波長幅は、特に規定するもののほか適当に定
40 める。

41 3. 注意

42 蛍光強度は溶液の濃度、温度、pH、溶媒又は試薬の種類及
43 びそれらの純度などによって影響されることが多い。

44