

機器分析；大学・高専 # 6-1

# ランベルト・ベールの法則の 適用限界

吸光光度法・蛍光光度法  
ゼロから必ずわかる！  
Today's TOPICs/ 動画でわかること

- ・ 吸光光度法の概要
- ・ ランベルト・ベールの法則
- ・ ランベルト・ベールの法則の意味



ヨハン・ハインリヒ・ランベルト  
Johann Heinrich Lambert  
1728年8月26日－1777年9月25日

1

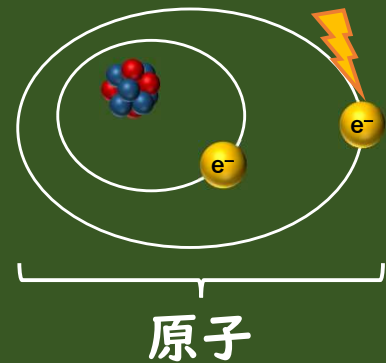
## 吸光光度分析と蛍光光度分析について

- ・ 吸光光度分析 (Absorption Spectroscopy)
- ・ 蛍光光度分析 (Fluorometric Spectroscopy)

2

## 電磁波の作用する場所

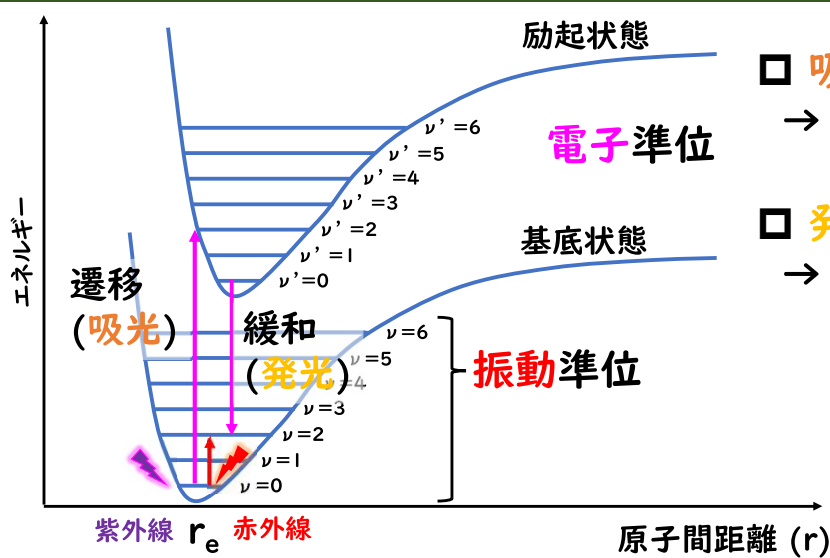
名称	波長 / nm	エネルギー / eV	作用する場所
$\gamma$ 線	< 0.01	$10^5$	原子核
X線	0.01-10	$10^5$ -100	内殻の電子
紫外線 (可視光線)	10-760 (380-760)	100-1.6	外殻の電子
赤外線	760- $10^6$	$1.6$ - $10^{-3}$	原子間の振動
マイクロ波	$10^5$ - $10^9$	$0.01$ - $10^{-6}$	電子スピン
ラジオ波	$10^9$ <	$10^{-6}$ <	核スピン



前回までの振動分光法は、低エネルギーの赤外線

3

## 振動準位と電子準位の関係



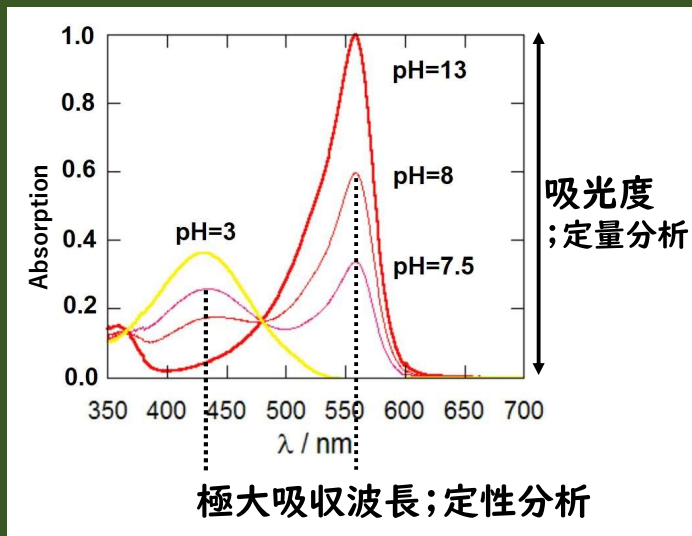
□ 吸収スペクトルを分析  
→ 可視・紫外吸収法

□ 発光スペクトルを分析  
→ 蛍光光度法

(概要欄参照) モースポテンシャル [https://en.wikipedia.org/wiki/Morse\\_potential](https://en.wikipedia.org/wiki/Morse_potential)

4

## 吸収スペクトルの例：フェノールレッドのpHによる波長変化



横軸：波長, 200-900nm  
縦軸：吸光度(Abs)透過率(%)

$$E = h \frac{c}{\lambda}$$

h(プランク定数):  $6.63 \times 10^{-34}$  Js  
c(光速):  $2.998 \times 10^8$  ms<sup>-1</sup>

吸光度  
；定量分析

5

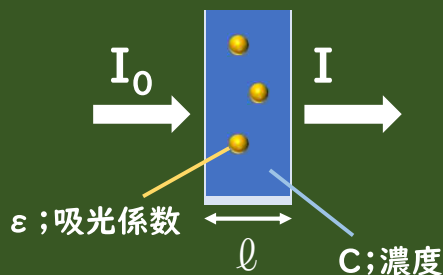
## ランベルト・ベールの法則(Lambert-Beer Law)

$$A = -\log \left( \frac{I}{I_0} \right)$$

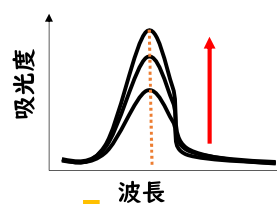
吸光度

$$= \epsilon c \ell$$

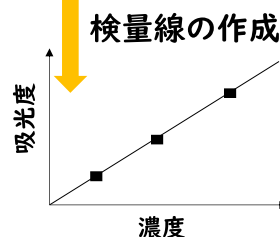
E: 吸光係数 c: 濃度 ℓ: セル長



吸光度Aは、濃度cに比例する。  
吸光係数は物質固有の値、セル長は大抵1cm



- 濃度が変わっても、極大吸収波長は変化しない
- 濃度cの増加に比例して、吸光度が増加



6

## ランベルト・ベールの法則の適用限界 その1; 独立に吸収

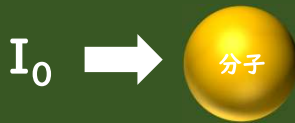
$$A = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right) = \varepsilon c l$$

吸光度  $E$ : 吸光係数  $c$ : 濃度  $l$ : セル長

吸光度  $A$  は、濃度  $c$  に比例しますが、吸光係数  $\varepsilon$  にも比例します。

$$\varepsilon = N_A \times \sigma$$

吸光係数  $\varepsilon$  は、 $N_A$ : アボガドロ数  
 $\sigma$ : 分子1個が光を受ける断面積



仮定

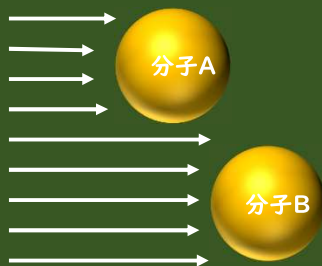
“分子が独立に光を吸収すること”

7

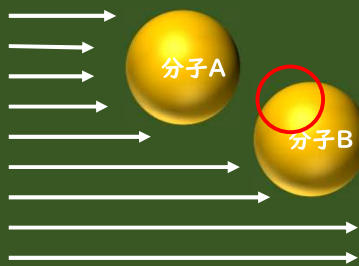
## ランベルト・ベールの法則の適用限界 その2; 光吸収断面積が変化

仮定 “分子が独立に光を吸収すること” とは？

**Yes:** 独立に光を吸収



**No:** 前の粒子が邪魔で光を吸収できない



分子Aがあることで、分子Bに光が当たらない部分が生じる。  
つまり、光の吸収断面積 ( $\sigma$ ) が変化してしまう。

独立に光を吸収できないのは？

→ 粒子数が多い(濃度が高い時)

8

### ランベルト・ベールの法則の適用限界 その3; 吸光度の限界値

吸光係数(光の吸収断面積)は物質固有の値のため、吸光度から逆算して、「**独立に光を吸収する**」条件を見出す。

吸光度Aが、下記の数値になるように濃度を調整する。

**最適値**は、0.3ぐらい

**最高値**は、1.0ぐらい

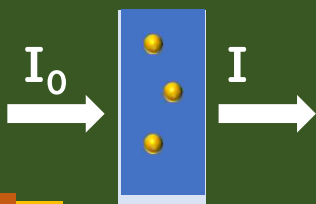
9

### ランベルト・ベールの法則の適用限界 その4; 吸光度の最高値

最高値1.0の場合

$$\text{吸光度 } A = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right) = 1.0 \longrightarrow \log\left(\frac{I}{I_0}\right) = -1.0$$

$$\frac{I}{I_0} = 10^{-1.0} = 0.1 \longrightarrow \underline{I = 0.1 I_0}$$



$I = 0.1 I_0$   
この式の意味は、入射光  $I_0$  の10%が透過光  $I$  として観察される。

10

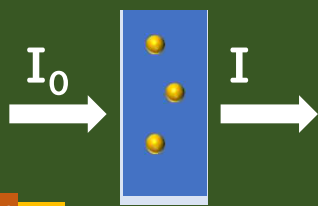
## ランベルト・ベールの法則の適用限界 その5; 吸光度の最適値

最適値0.3の場合

$$A = -\log\left(\frac{I}{I_0}\right) = 0.3 \longrightarrow \log\left(\frac{I}{I_0}\right) = -0.3$$

吸光度

$$\frac{I}{I_0} = 10^{-0.3} = 0.5 \longrightarrow \underline{I = 0.5I_0}$$



$I = 0.5I_0$   
この式の意味は、入射光  $I_0$  の50%が透過光  $I$  として観察される。

11

## ランベルト・ベールの法則の適用限界 その6; 吸光度の最高値

最高値1.0の場合

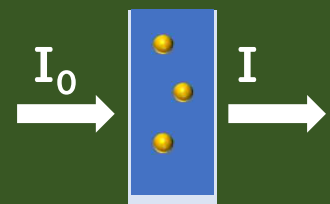
$$I = 0.1I_0$$

入射光  $I_0$  の10%が透過光  $I$  として観察される。

最適値0.3の場合

$$I = 0.5I_0$$

入射光  $I_0$  の50%が透過光  $I$  として観察される。



より独立して光を吸収できているのは？

12

本動画が皆様の理解に役立てば幸いです。

ご視聴ありがとうございました  
講師:とも