# • feature

分光計

# 分光器キャリブレーションは LEDと非線形最適化を使用する

マイケル・ケース

正確で再現性のある波長と強度情報は、LED光源と非線形最適化を使用する分光計では可能だ。システムの光学素子、回折格子、ディテクタ感度における変動を考慮に入れている。

分光測定は、重要な化学的計測技術であり、物質が発光、吸収あるいは散乱する電磁放射を調べ、特定し、定量化するために使用される。変動には、ラマン、蛍光、フォトルミネセンス、レーザ誘起蛍光(LIF)、時間分解、顕微分光およびレーザ誘起破壊分光法(LIBS)が含まれる。

これらの方法の共通点は、スペクトル情報、すなわちスペクトルピークの 波長の位置と相対強度の正確な同定を 要件とする。ここでは、化学的、物理 的、生物学的プロセスを洞察すること が目的となっている。

基本的な分光システムでは、光源が 放出する光は開口部(スリット)に送られ、そこでコリメートされて回折格子 (ディフラクティブグレーティング)に 向かう(図1)。グレーティングは、光を 個別波長に回折し、それらは次にミラ ーに送られる。イメージング分光では、 ミラーは焦点面で分散された光の像を 作る。また、CCDを置いて波長の関数 としての強度を検出し表示する。さら に、適切に較正されていれば、その分 光システムは正確な、再現性のある結 果を提供する。

どんな分光計でも最適な精度と再現性を確実にするために、プリンストン・インスツルメンツ社はIntelliCalというキャリブレーションシステムを開発した。同システムの特徴は、精密波長キャリ

ブレーションのための非線形最適化、強度キャリブレーションのためのLEDベース米国標準技術局(NIST)トレーサブル光源およびソフトウエア駆動動作である<sup>(1)</sup>。

## 波長キャリブレーション

ほとんどの研究者は、スペクトルデータの正確で再現性のある確認のために分光計やイメージング分光器が波長キャリブレーションを含むことに同意している。メーカーは、分光器の最終位置決め最中に波長キャリブレーションに細心の注意を払い、研究者は所定の波長キャリブレーションを行う。目的は分光システムが間違いなく十分に特徴が出せるようにすることである。それは、分光システムで行われる、最も広く用いられているキャリブレーション技術の1つである。

一般的な波長キャリブレーション法では、ユーザーは水銀(Hg)あるいはネオン(Ne)のような原子発光光源からのスペクトルを検出する必要がある。ユーザーは、CCDの対応するピクセル位置とともに2つあるいはそれ以上の既知の輝線を確認し、次に既知のスペクトル線間のギャップを埋めるためにデータに補間法を適用する。

この技術は既知の波長位置では正確 であるが、スペクトル線間のキャリブ レーションは近似値であり、補間法が 適用されるときにのみ正確である。こ のような制限が原動力となって、当社 のキャリブレーションツールは他の方 法と同じ原子発光線を用いるが、一段 と高度なアプローチを採用している。

USBから電源供給されるHgとNeのデュアル光源を用い、IntelliCalはHgまたはNeスペクトルを検出し、既知のスペクトル波長テーブルとその相対強度を参照する。さらに、分光器の物理的特性に基づいたモデルを引き出して観察されたスペクトルを見積もる。非線形最適化により、理論モデルパラメータを修正し、観察されたスペクトル強度と計算されたスペクトル強度間の残余誤差を最小化する。

この繰り返し過程は、一連の物理モデルパラメータを生む。これは、それに続く取得スペクトルのキャリブレーションのためにモデル化された分光器を最もよく示すものとなる。この波長キャリブレーションは、当社のLightFieldスペクトルイメージングおよび分光計ソフトウエア内で行われ、従来の方法に対して3~10倍の精度であり、分光器を較正する時間は一般に数秒である<sup>(2)</sup>。

### 強度のキャリブレーション

強度キャリブレーションの主目的は、y軸のキャリブレーションである。これによって分光システムはシステムのスペクトル応答とは独立にサンプルもしくは光源の検出と解析が行える。NISTによると、すべての測定器は固有のスペクトル感度を持っており、あらゆる測定器で、また1台の測定器であってもその

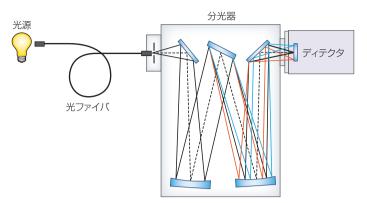


図1 典型的な分光システムは、光源、光ファイバ、分光器とCCDディテクタで構成されている。

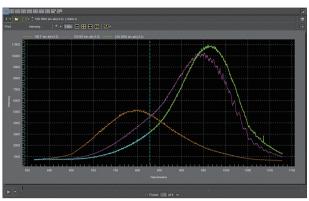


図2 3つの異なる分光システムで計測された光源の発光は、システム感度によって生じた強度とピーク位置の大きな違いを示している。

時々において、単一サンプルのスペクトル形状と絶対強度の両方が異なる<sup>(3)</sup>。

この見解を説明するために、3つの異なる分光システムを使って同じ光源の発光を収集した(図2)。強度キャリブレーションをしていない場合、どの曲線が正しいかの判断は難しい。各スペクトルは光源の発光と、ビームと相互作用するシステムコンポーネントが作り出したものであるからだ。コンポーネントには、レンズ、フィルタ、回折格子、反射面、それにこの場合は異なるCCDディテクタが含まれる。

強度キャリブレーションは、スペク トルデータからシステムのスペクトル 感度を除去する際に有効である。とは 言え、この点は見過ごされることが多 い。費用がかかり、この種のキャリブ レーションを行うことが難しいからで ある。一般的な強度キャリブレーショ ンシステムで必要となるものは、NIST トレーサブルな石英・タングステン・ハロ ゲン(QTH)ランプの購入、調整電源、 光学システムの均一照射のための積分 球、たくさんのコンポーネントやハー ドウエア、光学テーブルの利用可能空 間である。次にラマン分光アプリケー ション用に開発された二番目のオプショ ンは、発光体に基づいたNISTトレー サブル相対強度補正基準を利用する。

どのオプションを選択しても、強度 キャリブレーションを成功させるため には、誤りのないシステム構成、強度 キャリブレーションの実施法について の知識、ユーザー側で行う一定のデー 夕処理が必要になる。例えば、NIST トレーサブルQTH光源、すなわち発 光基準では一般にキャリブレーション データが、表形式、放射曲線、あるい は多項式で提供される。分光システム を較正するにはユーザーは、システム を較正するにはユーザーは、システム に対して補間法を使い、その計算デー タを適用しなければならない。

もう1つの方法として、IntelliCalが 提供する強度キャリブレーション光源 は積分球組込みLEDベースであり、 400~1000nmで自動的に相対強度キャリブレーションを行う。LED光源は NISTトレーサブルランプに対して較正 されており、キャリブレーションデータ は光源の内部メモリに蓄積されている。

ランプとは異なり、LEDには複数の利点がある。これには、より長寿命であることと、キャリブレーションデータの安定性改善が含まれる。LEDの定格寿命は約4万時間、推奨再較正は1000時間毎。QTHランプは、設計にもよるが、平均して最大2500時間の寿命、推奨再較正は50~200時間の範囲である。

キャリブレーション光源の中で、望むなら、個々のLEDのスイッチを切ることもできる。これによりキャリブレーションデータからの不要な二次的放射の除去が便利に行える。一方、QTHランプは、二次的放射を除去するには順序並べ替えフィルタの追加が必要になる。

#### ソフトウエア駆動型キャリブレーション例

対象波長範囲でキャリブレーション 後、LED光源は分光計の入射スリットに 取り付けるか、サンプルの位置に置く かする。ランプのスイッチを入れ、温 度が安定した後、光源は強度キャリブ レーションができるようになっている。 この段階でユーザーは Light Field 内の Calibrate を選択し、キャリブレーション プロセスを実行する。

キャリブレーション中、ソフトウエアは光源のメモリに蓄積されたキャリブレーションデータを使用する。強度キャリブレーションが完了すると、それに続くスキャンは強度キャリブレーション済みとなる。これにより、サンプルデータからシステム感度を除去する。強度キャリブレーションのメリットには、強度プロファイルの補正とシステム依存性の除去が含まれる。

2、3の例でキャリブレーションプロセスを説明する。最初の例では、5つの

# • feature 分光計



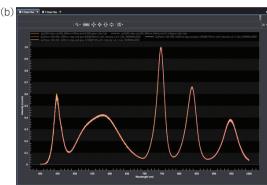


図3 2つの異なる分光器、2つの異なる CCD、全部で5つの異なる回折格子を用いて光源発光を計測。(a)は強度キャリブレーションなし(b)は強度キャリブレーション後。

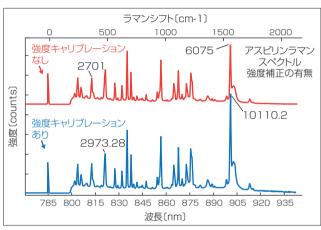


図4 アスピリンの785nmラマンスペクトルを強度キャリブレーションあり(青色トレース)と強度キャリブレーションなし(赤色トレース)で示している。

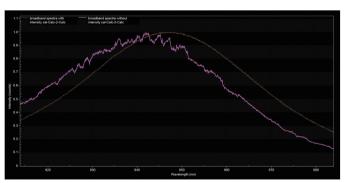


図5 紫のトレースはNIR領域のエタロンニング効果を示している。一方、オレンジのトレースは、強度キャリブレーションがエタロンニングをどのように除去し、強度プロファイルを補正するかを示している。

スペクトルがサンプル光源から収集される。ここでは2つの異なる分光器、2つの異なるCCD、全部で5つの異なる回折格子が使用されている(図3)。強度キャリブレーションをしていない場合、スペクトルに大きな差があることに注意。強度キャリブレーション後、5つのスペクトルは完全に一致している。これは測定器の感度がスペクトルデータから除去されているからである。強度キャリブレーションにより、分光システム間で、あるいは世界の他のファシリティとの間で高信頼にスペクトルデータを共有することができる。

二番目の例では、強度キャリブレーションをした場合と強度キャリブレーションなしの場合とで、アスピリンのラマンスペクトルを見せている。強度

キャリブレーションにより、サンプルの定量分析向けに正確な強度プロファイルが可能になる(図4)。

最後の例では、サンプルスペクトルをシステムエタロンニング-スペクトルトレースに重なった凹凸パターンが生ずる場合で示している(図5)。エタロンニングは、近赤外(NIR)で裏面照射CCDが使用されるときに起こる。CCDセンサのシリコン空乏層がNIRで透明になり始め、NIR波長を照射すると干渉縞すなわちエタロンニングが生ず

る。強度キャリブレーションは、強度 プロファイルを補正しながら、エタロ ンニングを完全に除去する。

これらの例が説明しているように、 精密な波長と強度のキャリブレーション は、分光アプリケーションで重要な役 割を果たす。波長キャリブレーション は分光システムが正確で再現性のある 結果を確実に生み出し、それに対して 強度キャリブレーションはシステム感 度に影響されないスペクトルデータの 取得を可能にする。

### 参考文献

- (1) U.S. Patent 7,999,933, "Method for calibrating imaging spectrographs" (Aug. 16, 2011).
- (2) See http://bit.ly/1MhBsa4.
- (3) See http://l.usa.gov/1P8RMQX.
- (4) W. S. Hurst, S. J. Choquette, and E. S. Etz, Appl. Spectrosc., 61, 7, 694-700 (2007).

#### 著者紹介

マイケル・ケースは、プリンストン・インスツルメンツ社の分光事業ユニットマネージャー。e-mail: mcase@princetoninstruments.com URL: www.princetoninstruments.com