

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特 許 公 報 (B2)

(11) 特許番号

特許第6919890号  
(P6919890)

(45) 発行日 令和3年8月18日 (2021.8.18)

(24) 登録日 令和3年7月28日 (2021.7.28)

(51) Int.Cl.

F I

GO 1 N 21/64 (2006.01)

GO 1 N 21/64

Z

請求項の数 9 (全 27 頁)

(21) 出願番号	特願2017-141930 (P2017-141930)	(73) 特許権者	503460323
(22) 出願日	平成29年7月21日 (2017.7.21)		株式会社日立ハイテクサイエンス
(65) 公開番号	特開2019-20363 (P2019-20363A)		東京都港区虎ノ門一丁目17番1号
(43) 公開日	平成31年2月7日 (2019.2.7)	(74) 代理人	110002000
審査請求日	令和1年6月27日 (2019.6.27)		特許業務法人栄光特許事務所
早期審査対象出願		(72) 発明者	堀込 純
前置審査			東京都港区西新橋一丁目24番14号 株
			式会社日立ハイテクサイエンス内
		(72) 発明者	中島 莉乃
			東京都港区西新橋一丁目24番14号 株
			式会社日立ハイテクサイエンス内
		(72) 発明者	佐藤 洋一
			東京都港区西新橋一丁目24番14号 株
			式会社日立ハイテクサイエンス内

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 光分析装置用の表示装置

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項1】

試料に光を照射して当該試料を分析する光分析装置の測定結果を表示する、光分析装置用の表示装置であって、

制御部と、

前記制御部が処理した測定データに基づく画像を表示する表示部と、

を備え、

前記測定データには、光の照射により試料が放出する出射光の強度を示すスペクトルと、撮像装置が撮像した試料の試料画像が少なくとも含まれ、

前記表示部は、前記スペクトルと前記試料画像とを、同一画面内で前記スペクトルの軸の値と、各々が当該値において得られる複数の試料画像を対応付けた状態で、当該軸に複数の試料画像が隣接するように並べて表示し、

前記制御部は、

第1の二次元スペクトルと、

第2の二次元スペクトルと、

前記第1の二次元スペクトル及び前記第2の二次元スペクトルに含まれる三つの軸から構成される三次元スペクトルと、を生成し、

前記表示部は、前記第1の二次元スペクトルと、前記第2の二次元スペクトルと、前記三次元スペクトルと、前記試料画像とを同一画面内で並べて表示し、

前記表示部は、前記第1の二次元スペクトル及び前記第2の二次元スペクトルのいずれ

10

20

かの軸に対応した所定の波長間隔又は時間間隔をもって複数の試料画像を取得し、

前記制御部は、前記第 1 の二次元スペクトル及び前記第 2 の二次元スペクトルのいずれかの波長軸又は測定時間軸に対応した複数の試料画像を含む試料画像一覧を生成し、

前記表示部は、前記第 1 の二次元スペクトル及び前記第 2 の二次元スペクトルの波長軸又は測定時間軸のいずれかに対応するように、前記試料画像一覧を並べて表示し、

前記表示部は、操作者が操作することにより、前記第 1 の二次元スペクトル及び前記第 2 の二次元スペクトルの波長軸又は測定時間軸における特定の波長又は時間の位置を選択可能な二つのトレースバーを、前記三次元スペクトル上に表示するとともに、

前記表示部は、前記二つのトレースバーのいずれかが位置する前記三次元スペクトルの波長又は測定時間における試料画像を、前記三次元スペクトルの波長軸又は測定時間軸に隣接して配置し、

10

前記表示部は、前記二つのトレースバーが選択した特定の波長又は時間の位置におけるスペクトルを前記第 1 の二次元スペクトル及び前記第 2 の二次元スペクトル上に表示する、

光分析装置用の表示装置。

#### 【請求項 2】

試料に光を照射して当該試料を分析する光分析装置の測定結果を表示する、光分析装置用の表示装置であって、

制御部と、

前記制御部が処理した測定データに基づく画像を表示する表示部と、

20

を備え、

前記測定データには、光の照射により試料が放出する出射光の強度を示すスペクトルと、撮像装置が撮像した試料の試料画像が少なくとも含まれ、

前記表示部は、前記スペクトルと前記試料画像とを、同一画面内で前記スペクトルの軸の値と、各々が当該値に対応した複数の試料画像を対応付けた状態で並べて表示し、

前記制御部は、前記スペクトルの波長軸の各波長に対応した複数の試料画像を含む試料画像一覧を生成し、

前記表示部は、前記スペクトルの波長軸に対応するように、前記試料画像一覧を並べて表示する、光分析装置用の表示装置。

#### 【請求項 3】

30

請求項 1 に記載の光分析装置用の表示装置であって、

前記制御部は、前記スペクトルの測定時間軸の各測定時間に対応した複数の試料画像を含む試料画像一覧を生成し、

前記表示部は、前記スペクトルの測定時間軸に対応するように、前記試料画像一覧を並べて表示する、光分析装置用の表示装置。

#### 【請求項 4】

試料に光を照射して当該試料を分析する光分析装置の測定結果を表示する、光分析装置用の表示装置であって、

制御部と、

前記制御部が処理した測定データに基づく画像を表示する表示部と、

40

を備え、

前記測定データには、光の照射により試料が放出する出射光の強度を示すスペクトルと、撮像装置が撮像した試料の試料画像が少なくとも含まれ、

前記表示部は、前記スペクトルと前記試料画像とを、同一画面内で前記スペクトルの軸の値と、各々が当該値に対応した複数の試料画像を対応付けた状態で並べて表示し、

前記スペクトルは、

前記試料への入射光の波長に対応した第 1 の波長軸と、

前記試料からの出射光の波長に対応した第 2 の波長軸と、

前記第 1 の波長軸と前記第 2 の波長軸によって定まる前記強度に対応したスペクトル強度軸とを含む三次元スペクトルであり、

50

前記制御部は、前記第 1 の波長軸と前記第 2 の波長軸の少なくともいずれかの各波長に対応した複数の試料画像を含む試料画像一覧を生成し、

前記表示部は、前記第 1 の波長軸と前記第 2 の波長軸のいずれかに対応するように、前記試料画像一覧を並べて表示する、光分析装置用の表示装置。

【請求項 5】

試料に光を照射して当該試料を分析する光分析装置の測定結果を表示する、光分析装置用の表示装置であって、

制御部と、

前記制御部が処理した測定データに基づく画像を表示する表示部と、

を備え、

前記測定データには、光の照射により試料が放出する出射光の強度を示すスペクトルと、撮像装置が撮像した試料の試料画像が少なくとも含まれ、

前記表示部は、前記スペクトルと前記試料画像とを、同一画面内で前記スペクトルの軸の値と、各々が当該値に対応した複数の試料画像を対応付けた状態で並べて表示し、

前記スペクトルは、

前記試料への入射光の波長または前記試料からの出射光の波長に対応した波長軸と、

測定時間に対応した測定時間軸と、

前記波長軸と前記測定時間軸によって定まる前記強度に対応したスペクトル強度軸とを含む三次元スペクトルであり、

前記制御部は、前記波長軸と前記測定時間軸の少なくともいずれかの各波長または各測定時間に対応した複数の試料画像を含む試料画像一覧を作成し、

前記表示部は、前記波長軸と前記測定時間軸のいずれかに対応するように、前記試料画像一覧を並べて表示する、光分析装置用の表示装置。

【請求項 6】

請求項 1 に記載の光分析装置用の表示装置であって、

前記制御部は、前記第 1 の二次元スペクトルと、前記第 2 の二次元スペクトルと、前記三次元スペクトルとのいずれかの軸に対応した複数の試料画像を含む試料画像一覧を生成し、

前記表示部は、前記軸に対応するように、前記試料画像一覧を並べて表示する、光分析装置用の表示装置。

【請求項 7】

請求項 1 に記載の光分析装置用の表示装置であって、

前記制御部は、前記試料画像中の背景領域を特定の色で塗りつぶす処理を行う、光分析装置用の表示装置。

【請求項 8】

請求項 1 に記載の光分析装置用の表示装置であって、

前記表示部は、複数の試料の各々に対応した前記スペクトルと前記試料画像を、同一画面内で並べて表示する、

光分析装置用の表示装置。

【請求項 9】

請求項 1 に記載の光分析装置用の表示装置であって、

基準反射物に光を照射して、得られる光量を 100% の値としてベースラインを取得し、

光の照射により試料が反射する光量の変化を前記ベースラインの光量と比演算して反射率を計測し、

前記スペクトルとして、当該反射率に基づく反射スペクトルを表示する、

光分析装置用の表示装置。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

10

20

30

40

50

本発明は、光分析装置用の表示装置に関する。

【背景技術】

【0002】

試料容器に封入（収容）された密封材料や液体などを分析する分光蛍光光度計が知られている（非特許文献1）。また、積分球を用いて蛍光スペクトルを補正する分光蛍光光度計が知られている（非特許文献2）。さらに、分光画像を取得するスペクトルイメージングの技術を応用した蛍光指紋イメージング装置が知られている（非特許文献3）。

【0003】

単一波長の励起光を発するLEDを光源として用いることにより、試料の蛍光を検出する蛍光検出装置が知られている（特許文献1）。また、ハイパースペクトルカメラを用いることにより、画像内の各画素における蛍光スペクトル情報を取得する装置が知られている（特許文献2）。

10

【先行技術文献】

【特許文献】

【0004】

【特許文献1】国際公開第2017/056830号

【特許文献2】特開2013-137199号公報

【非特許文献】

【0005】

【非特許文献1】日本分光学会測定法シリーズ3「蛍光測定 - 生物学の応用」、45 - 77頁、株式会社学会出版センター、1983年1月20日

20

【非特許文献2】分析化学「汎用型分光蛍光光度計を用いる固体蛍光体の絶対蛍光量子収率測定を可能にする簡易補正方法」、第58巻、6号、553 - 559頁、2009年

【非特許文献3】日本食品科学工学会誌「蛍光指紋イメージング技術の開発」、第62巻、第10号、2015年

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

非特許文献1、2に示されるような蛍光光度計は、試料を設置し、励起光を照射した際の蛍光スペクトルや励起光の波長を変化させた際の蛍光強度を励起スペクトルとして取得していた。この時、試料室は暗室にする必要があるため、励起光が照射された際の試料の蛍光の発光分布や発光色、発光強度などの状態については確認することはできない。

30

【0007】

一方、非特許文献3に示されるような蛍光指紋イメージング装置は、蛍光の発光情報を面内の分布を画像として取得する。この方法を用いれば、任意の励起光を照射した際の蛍光情報を画像として取得することが可能である。この時、白色光を光学フィルターにて分光するため、励起波長は光学フィルターの枚数に制限されてしまう。また、励起光はレンズを通じて試料に直接照射するため、励起光の照射密度は中心部に偏り、励起光量のムラが生じる。励起光量と蛍光強度は比例関係があるため、光量のムラは、試料面内の蛍光画像にムラを与えるおそれがある。

40

【0008】

特許文献1では、非特許文献3と同じく試料に励起光を照射した状態で生じる蛍光に着目した画像データを取得している。ここでは、励起光に発光波長が単一のLEDを用いている。試料に応じて励起光のLEDを複数用意することで異なる励起波長で試料を励起させることができるが、励起波長はLEDの個数に限定される。また、非特許文献3および特許文献1では、蛍光の発光情報を面内の分布を画像として取得しているが、蛍光スペクトルを取得することはできず、あくまで画像内で蛍光の強弱を把握するに留まる。

【0009】

特許文献2に示す装置では、ハイパースペクトルカメラを用いることで画像内の各画素における蛍光スペクトル情報を取得することができる。しかしながら、ハイパースペクト

50

ルカメラは高価であり、スペクトルのデータ取得間隔は5 nm程度で分解能が低い。また、試料に対しては励起光を直接照射していることから励起光量のムラが生じ、試料面内の試料画像にムラを与えるおそれがある。

【0010】

また、非特許文献3に記載されているように、従来の測定現場においては、蛍光光度計にてスペクトル情報を取得し、その情報を基に励起、蛍光波長条件を絞り込んで、蛍光の試料画像を取得することが一般的である。そのため、スペクトルと試料画像の情報は、別々に独立して表示することが通常の方法である。

【0011】

すなわち、スペクトルと試料画像の情報は、各々異なる装置で取得し、別々に表示することが一般的である。スペクトルは光が照射された領域の全体を平均化したいわば平均的な情報であり、性質が領域毎に不均一な試料において、そのような不均一性を確認することは困難であった。一方、試料画像からそのような不均一性に関する情報を得ることは可能であるが、全体的な性質を表すスペクトルと併せて確認することは困難であった。試料の全体的な性質を表すスペクトルと試料の領域毎の性質を表す試料画像の双方を考慮して、試料の測定を行うことが求められている。このことは、蛍光光度計に限られず、他の光分析装置でも同じである。

【0012】

本発明は、精度が高くかつ利便性の高い試料測定を実現し得る光分析装置用の表示装置に関する。

【課題を解決するための手段】

【0013】

本発明の光分析装置用の表示装置は、試料に光を照射して当該試料を分析する光分析装置の測定結果を表示する、光分析装置用の表示装置であって、制御部と、前記制御部が処理した測定データに基づく画像を表示する表示部と、を備え、前記測定データには、光の照射により試料が放出する出射光の強度を示すスペクトルと、撮像装置が撮像した試料の試料画像が含まれ、前記表示部は、前記スペクトルと前記試料画像とを、同一画面内で並べて表示する。

【発明の効果】

【0014】

本発明によれば、ムラを抑えた励起光を試料に照射するとともに、ムラを抑えた蛍光を取り出すことが可能であり、優れた試料画像とスペクトルを同時に取得することが可能である。更に本発明によれば、このような試料画像とスペクトルを同一画面内に表示することが可能であり、利便性が増すことになる。

【図面の簡単な説明】

【0015】

【図1】本発明に係る分光蛍光光度計の一実施形態を示す構成ブロック図。

【図2】分光蛍光光度計の測定において、励起波長に対する蛍光の強度を示す励起スペクトルを示す図。

【図3】分光蛍光光度計の測定において、蛍光波長の強度を示す蛍光スペクトルを示す図。

【図4】分光蛍光光度計の測定において、特定波長の励起光に対応した特定波長の蛍光の強度を示す時間変化スペクトルを示す図。

【図5】三次元スペクトルを示す図であり、(a)は励起波長、蛍光波長、蛍光強度の三次元蛍光スペクトル、(b)は時間、蛍光波長、蛍光強度の三次元時間変化スペクトルを示す図。

【図6】積分球の一例の構成を示す図であり、(a)は上面図、(b)は側面図。

【図7】撮影画像の一例を示す図。

【図8】励起波長を変化させた際に得られる励起スペクトルとそれに連動して取得した試料画像の一例を示す図。

10

20

30

40

50

【図 9】励起波長を固定し蛍光波長を変化させた際に得られる蛍光スペクトルと、その励起波長において取得した試料画像の一例を示す図。

【図 10】励起波長と蛍光波長を固定し蛍光強度の時間変化を測定する時間変化スペクトルと、一定時間毎に取得した試料画像の一例を示す図。

【図 11】表示部による統合データ表示の例を示す図。

【図 12】図 11 の表示の変形例を示す図。

【図 13】スタンバイ中の測定画面の一例を示す図。

【図 14】励起スペクトル測定中の測定画面の一例を示す図。

【図 15】時間変化測定中の測定画面の一例を示す図。

【図 16】三次元蛍光スペクトル測定中の測定画面の一例を示す図。

10

【図 17】図 11 とは異なる統合データ表示の例を示す図。

【図 18】本発明に係る分光蛍光光度計の他の実施形態を示す構成ブロック図。

【図 19】図 18 の実施形態における積分球及びカメラモジュールの構成を示す図。

【図 20】試料画像の背景処理に関する実施例を示す図。

【図 21】複数の試料における励起スペクトルと試料画像の測定結果を重ねて表示した際の表示例を示す図。

【図 22】複数の試料における蛍光スペクトルと試料画像の測定結果を重ねて表示した際の表示例を示す図。

【図 23】複数の試料における時間変化スペクトルと試料画像の測定結果を重ねて表示した際の表示例を示す図。

20

【図 24】反射スペクトルと試料画像の表示例を示す図。

【図 25】積分球の他の例の構成を示す図であり、(a) は上面図、(b) は側面図。

【図 26】積分球におけるアパーチャーの有無による試料画像の比較を示す図。

【発明を実施するための形態】

【0016】

以下、本発明に係る分光蛍光光度計の好適な実施形態を、図 1 ~ 図 26 に基づいて詳述する。

【0017】

図 1 は、本発明に係る分光蛍光光度計の一実施形態を示す構成ブロック図である。図 1 を用いて本実施形態の分光蛍光光度計の構成を詳述する。

30

【0018】

本実施形態の分光蛍光光度計 1 は、試料に励起光を照射して、試料から放出された蛍光を測定する装置であり、光度計部 10 と、光度計部 10 内に配置され、光度計部 10 をコントロールし試料を分析するデータ処理部 30 と、入出力を行う操作部 40 とを備える。

【0019】

光度計部 10 は、光源 11 と、光源 11 の光から分光して励起光を生成する励起側分光器 12 と、励起側分光器 12 からの光を分光するビームスプリッタ 13 と、ビームスプリッタ 13 で分光された一部の光の強度を測定するモニタ検知器 14 と、試料から放出された蛍光を単色光に分光する蛍光側分光器 15 と、単色の蛍光の電気信号を検知する検知器（蛍光検知器）16 と、励起側分光器 12 の回折格子を駆動する励起側パルスモータ 17 と、蛍光側分光器 15 の回折格子を駆動する蛍光側パルスモータ 18 とを備える。

40

【0020】

データ処理部 30 は、コンピュータ 31 と、コンピュータ 31 内に配置される制御部 32 と、試料からの蛍光をデジタル変換する A/D 変換器 33 を備える。また、操作部 40 は、操作者が、コンピュータ 31 の処理に必要な入力信号を入力する操作パネル 41 と、コンピュータ 31 により処理された各種分析結果を表示する表示部 42 と、操作パネル 41 及び表示部 42 とコンピュータ 31 とを連結するインターフェース 43 とを備える。

【0021】

操作者が操作パネル 41 により入力した測定条件に応じて、コンピュータ 31 が励起側パルスモータ 17 に信号を出力し、励起側パルスモータ 17 が駆動して励起側分光器 12

50

が目的の波長位置に設定される。また、同じく測定条件に応じて、コンピュータ 31 が蛍光側パルスモータ 18 に信号を出力し、蛍光側パルスモータ 18 が駆動して蛍光側分光器 15 が目的の波長位置に設定される。励起側分光器 12、蛍光側分光器 15 は、所定のスリット幅を持つ回折格子やプリズムなどの光学素子を有しており、励起側パルスモータ 17、蛍光側パルスモータ 18 を動力とし、ギヤやカム等の駆動系部品を介して光学素子を回転運動させることでスペクトル走査が可能となる。

#### 【0022】

さらに光度計部 10 は、積分球 20 を有する。積分球 20 は実質的に球形の形状を呈し、その内部には物質が存在せず、内部空間が画定されている。また、積分球 20 は、固体、紛体、液体等種々の形態をとる測定対象の試料を保持（収容や封入など）可能な試料保持部 23 を有する。試料保持部 23 は、積分球 20 に対し取り外し可能に構成され、円形板形状を呈し試料をばね応力にて保持する。

10

#### 【0023】

さらに、本実施形態においては、積分球 20 の近傍にカメラモジュール（撮像装置）21 が設けられている。カメラモジュール 21 は、試料からの蛍光の電気信号を検知して、スペクトルの強度を取得する検知器 16 とは異なり、試料からの蛍光により、試料画像（試料表面の画像）を撮像し、取得する装置である。本実施形態において、試料保持部 23 は、ビームスプリッタ 13 で分光された一部の励起光が、直接試料に照射されない位置に設置されている。一方、カメラモジュール 21 は、積分球 20 の中心から見て試料保持部 23 の位置とは対極の位置（対極の位置の近傍を含む）に設置され、光源 11 の光により照射された試料が放出する蛍光に基づき、試料の表面を撮像する。

20

#### 【0024】

積分球 20 は、ビームスプリッタ 13 で分光された一部の励起光を内部に取り込む。積分球 20 の（内部空間を画定する）内面には、硫酸バリウムなどの高反射の白色材料等が塗布されている。積分球 20 は、入射した励起光を内面で反射、散乱させることにより、平均化された励起光を、試料保持部 23 に保持された試料に照射する。さらに、試料から放出された蛍光が、積分球 20 の内面で反射、散乱し、積分球から出て、蛍光側分光器 15、検知器 16 に導かれる。

#### 【0025】

表面測光の光学系の場合、試料の表面が荒れていたり、均一でなかったりすることがあり、光の散乱が大きくなるとともに散乱が不均一となり、試料の設定の仕方によって得られる結果が異なる、すなわち設置再現性が低下することでデータのばらつきが生じる可能性がある。例えば、操作者毎に試料の設定の具合は微妙に異なる可能性がある。

30

#### 【0026】

そこで、積分球 20 を用いることにより、光源 11 の照明強度にムラがあったとしても、積分球 20 に入射した励起光が内面で反射、散乱することにより平均化されてムラを抑えられる。光源 11 からの照射光が、試料表面、検出器及びカメラに直接入射することを防止するような配置が望ましい。従来の積分球 20 の使用方法では、光源、バッフル及び検出器の配置により積分球 20 内での反射回数が増加して照射光が減衰し、結果として試料表面からの蛍光強度が弱くなる可能性もある。本実施形態の配置では、照射光の減衰も抑えられ、励起光の十分な強度を得ることが可能となる。このムラを抑えた励起光が試料保持部 23 に保持された試料に照射する。さらに、試料から放出された蛍光が、積分球 20 の内面で反射、散乱することにより、強度が均一化され、試料の設置の仕方に関わらず、ムラを抑えた蛍光を得ることが可能となる。積分球 20 の詳細は後に説明する。

40

#### 【0027】

放出された蛍光を蛍光側分光器 15 が取り込み、単色光に分光し、検知器 16 がこの単色光を検出し、A/D変換器 33 を経てコンピュータ 31 に信号強度として取り込まれ、表示部 42 にて各種分析結果が表示される。一方、放出された蛍光をカメラモジュール 21 が撮像し、試料画像を取得し、表示部 42 にて表示される。

#### 【0028】

50

一般に、検知器 16 から得られる試料からの蛍光の電気信号は、蛍光の強度を示す種々のスペクトルの形式で、表示部 42 が表示する。図 2 ~ 図 5 は、本実施形態の分光蛍光光度計 1 のみならず、一般的な分光蛍光光度計によっても得られる、二つの軸を含む二次元スペクトルの例を示している。図 2 はスペクトルの一例である励起スペクトル、図 3 はスペクトルの一例である蛍光スペクトル、図 4 はスペクトルの一例である時間変化スペクトル、図 5 ( a )、( b ) はスペクトルの一例である三次元スペクトルをそれぞれ示す。

【 0 0 2 9 】

図 2 に示す励起スペクトルは、試料保持部 23 内の試料に対し、励起光の励起波長を変化させた際の蛍光強度を測定することにより得られるスペクトルである。励起側分光器 12 が励起波長を測定開始波長から測定終了波長まで変化させ、各波長の励起光を試料に照射する。その時の固定波長に設定されている蛍光側分光器 15 を経て特定波長の蛍光の変化を検知器 16 が検出し、A / D 変換器 33 を介してコンピュータ 31 に信号強度として取り込まれる。コンピュータ 31 ( 制御部 32 ) が、この信号強度を解析処理し、表示部 42 が表示可能なスペクトルを生成する。

【 0 0 3 0 】

表示部 42 は、測定結果として、励起波長と蛍光強度の図 2 に示されるような 2 次元の励起スペクトルを表示する。図 2 のスペクトル ( グラフ ) は、特定の蛍光波長 ( 例えば 550 nm ) において励起波長を変化させた際の蛍光強度 ( 任意単位 ) を示している。

【 0 0 3 1 】

図 3 に示す蛍光スペクトルは、試料保持部 23 内の試料に対し、固定波長の励起光を照射し、蛍光波長を変化させた際の波長毎の蛍光強度を測定することにより得られるスペクトルである。固定波長に設定された励起側分光器 12 からの励起光を試料に照射する。蛍光側分光器 15 は、その時の測定対象の蛍光を測定開始波長から測定終了波長まで変化させ、波長毎の蛍光の変化を検知器 16 が検出し、A / D 変換器 33 を介してコンピュータ 31 に信号強度として取り込まれる。コンピュータ 31 ( 制御部 32 ) が、この信号強度を解析処理し、表示部 42 が表示可能なスペクトルを生成する。

【 0 0 3 2 】

表示部 42 には、測定結果として、蛍光波長と蛍光強度の図 3 に示されるような 2 次元の蛍光スペクトルを表示する。図 3 のスペクトルは、励起光が特定波長 ( 例えば 450 nm ) であり、蛍光波長を変化させた際の蛍光強度を示している。

【 0 0 3 3 】

図 4 に示す時間変化スペクトルは、試料保持部 23 内の試料に対し、固定波長の励起光を照射し、固定波長の蛍光の強度を単位時間毎に測定することにより得られるスペクトルである。固定波長に設定された励起側分光器 12 からの励起光を試料に照射し、その時に生じる蛍光をその時の固定波長に設定されている蛍光側分光器 15 を経て、時間毎の蛍光の強度変化を検知器 16 が検出する。これが A / D 変換器 33 を介してコンピュータ 31 に信号強度として取り込まれる。

【 0 0 3 4 】

表示部 42 は、測定結果として、測定時間と蛍光強度の図 4 に示されるような 2 次元の時間変化スペクトルを表示する。図 4 のスペクトルは、特定波長の励起光に対応した特定波長の蛍光 ( 例えば 550 nm ) の強度を検知した結果を示している。時間が経過することにより、試料中の蛍光物質の変化、分解などが生ずるため、強度は下がることが多い。

【 0 0 3 5 】

図 5 ( a ) は、表示部 42 が表示する三次元スペクトルであり、特に三次元蛍光スペクトルを示す。試料に対し、励起波長を固定した際の蛍光スペクトルを測定し、蛍光スペクトル走査が終了したら、蛍光波長を測定開始波長に戻し、励起波長を所定の波長間隔だけ駆動、次の励起波長における蛍光スペクトルを測定する。得られた蛍光スペクトルを励起波長、蛍光波長、蛍光強度の三次元で記憶し、励起波長が最終の波長に達するまで繰り返すことにより、三次元蛍光スペクトルを取得することができる。本スペクトルは、図 2 の励起スペクトルと図 3 の蛍光スペクトルの組み合わせとすることができる。



## 【 0 0 3 6 】

得られた三次元蛍光スペクトルは、同一の蛍光強度をそれぞれ線で結び、等高線図や鳥瞰図等の模擬三次元形式にて描写される。等高線で山となる励起波長および蛍光波長が、試料に適した励起波長、特徴的な蛍光波長となり、操作者は、試料の測定範囲内の励起波長と蛍光波長の蛍光特性を、容易に把握することが可能となる。このような三次元蛍光スペクトルは、試料中の蛍光物質の成分や成分の同定等、多くの情報を得ることができる点で有用である。

## 【 0 0 3 7 】

図 5 ( b ) は、表示部 4 2 が表示する他の三次元スペクトルであり、特に三次元時間変化スペクトルを示す。試料に対し、励起波長を固定した際の蛍光スペクトルを測定し、蛍光スペクトル走査が終了したら、蛍光波長を測定開始波長に戻し、一定時間経過後、同じ励起波長における蛍光スペクトルを測定する。得られた蛍光スペクトルを測定時間、蛍光波長、蛍光強度の三次元で記憶し、設定された測定時間に達するまで繰り返すことにより、三次元時間変化スペクトルを取得することができる。本スペクトルは、図 3 の蛍光スペクトルと図 4 の時間変化スペクトルの組み合わせとすることができる。得られた三次元時間変化スペクトルは、同一の蛍光強度をそれぞれ線で結び、等高線図や鳥瞰図等の模擬三次元形式にて描写される。このような三次元時間変化スペクトルは、蛍光スペクトルの時間変化を得るのに有用である。

## 【 0 0 3 8 】

図 6 は、実施形態の積分球 2 0 の詳細を示す図であり、図 6 ( a ) は積分球 2 0 の上面図、図 6 ( b ) は積分球 2 0 の側面図を示す。本例の積分球 2 0 には、積分球 2 0 の外面と内面を貫通する六つのポート ( 穴 ) P 1 ~ P 6 が設けられている。ポート P 1 とポート P 3、ポート P 2 とポート P 4、ポート P 5 とポート P 6 が、それぞれ互いに球の中心点を間に位置して対極する位置に設けられている。ビームスプリッタ 1 3 に対向する位置のポート P 1 には何も設けられておらず、励起側分光器 1 2 で生成され、ビームスプリッタ 1 3 で分光された励起光が通過可能となっている。ポート P 5 には、試料を保持した試料保持部 2 3 が取り付けられている。ポート P 3、P 4 は、高反射の白色材料等 ( 例えば積分球 2 0 の内面と同一の物質 ) で形成された白板 2 2 で塞がれており、積分球 2 0 の内面の一部をなしている。なお、開放により励起光および蛍光が逃げることによる光量の低下を抑制するため、ポート P 2 の対極のポート P 4 は白板 2 2 でふさぐことが望ましいが、必須ではない。蛍光側分光器 1 5 に対向する位置のポート P 2、カメラモジュール 2 1 に対向する位置のポート P 6 には何も設けられていない。

## 【 0 0 3 9 】

本構成において、ポート P 1 から励起光を入射させると、励起光が、積分球 2 0 の内面で散乱、反射 ( 拡散反射 ) し、積分球 2 0 の内部空間が励起光で満たされる。そして、ポート P 1 から入射した励起光の入射方向に対し、90 度方向に蛍光を取り出すポート P 2 が配置されており、試料保持部 2 3 の試料から発せられた蛍光は、ポート P 2 を通過して蛍光側分光器 1 5 に導かれ、スペクトルが測定される。

## 【 0 0 4 0 】

また、試料を保持する試料保持部 2 3 は、励起光が直接照射されない位置であるポート P 5 の位置に設置されている。カメラモジュール 2 1 は、ポート P 5、すなわち試料保持部 2 3 の対極に位置するポート P 6 に対向するように設置されている。カメラモジュール 2 1 は、試料に焦点が合うようなレンズ、光量調整用の絞り、不要光をカットするロングパスフィルター、撮像素子等より構成される。カメラモジュール 2 1 は、データ処理部 3 0 のコンピュータ 3 1 により制御される。なお、試料保持部 2 3 の試料に励起光が直接照射されないことが満たされていれば、積分球 2 0 のポートの構成、数等は、図 6 に示すものには限定されない。また、本実施形態では各ポートの径がすべて同一であるが、同一にする必要は必ずしもない。また、白板 2 2 はそれが取り付けられるポートから外光が積分球内に入らない大きさであることが好ましい。試料保持部 2 3 の構造も特に限定されない。積分球 2 0 の内面の素材も特に限定はされないが、高反射率の素材で構成することが

好ましい。

【 0 0 4 1 】

図 7 は、試料画像（試料表面の画像）の一例を示す。分光蛍光光度計 1 の光源 1 1 からの励起光によって、試料保持部 2 3 の試料が照らされる。励起側分光器 1 2 を 0 次光（白色光）に設定した状態では、カメラモジュール 2 1 は、白色光源下の試料画像（白色光画像）を撮像し、取得することができる。励起側分光器 1 2 で目的波長の単色光に設定した状態では、カメラモジュール 2 1 は、単色光下の試料画像として蛍光を含む試料画像（蛍光画像）を撮像し、取得することができる。

【 0 0 4 2 】

本実施形態においては、試料を保持する試料保持部 2 3 は、積分球 2 0 に入射した励起光が直接照射されず、積分球 2 0 の内面において散乱した励起光が照射可能な位置であるポート P 5 の位置に設置されている。したがって、ポート P 1 から入射した励起光は、試料を照射する前に、まず積分球 2 0 の内面に入射し、内面で反射、散乱するため、平均化された励起光が得られる。この平均化された励起光が試料保持部 2 3 の試料に入射するため、励起光のムラを抑えることができる。

【 0 0 4 3 】

励起光が入射した試料からは蛍光が放出されるが、この蛍光も積分球 2 0 の内面に入射し、内面で反射、散乱された後、積分球 2 0 の外へ放出され、蛍光側分光器 1 5、検知器 1 6 に捉えられる。結果的に、検知器 1 6 は、積分球 2 0 の内面（の色、明るさなど）を蛍光によって観察することになるが、ムラの抑えられた励起光、蛍光による観察のため、試料の実態を反映した、精度の高いスペクトル（図 3 ～ 図 5 ）を取得することが可能となる。

【 0 0 4 4 】

一方、カメラモジュール 2 1 は、積分球 2 0 の中心から見て試料保持部 2 3 の位置とは対極の位置（対極の位置の近傍を含む）に設置され、光源 1 1 の光により照射された試料が放出する蛍光に基づき、試料の表面と積分球内面を撮像する。よって、カメラモジュール 2 1 は、ムラの抑えられた励起光により生ずる蛍光を撮像するため、試料の実態を反映した、精度の高い試料画像（図 7 ）を取得することが可能となる。

【 0 0 4 5 】

また、図 6 の形態によれば、カメラモジュール 2 1 は、試料保持部 2 3 の対極に位置しており、試料の表面から放出される蛍光を直接捉えて試料画像を撮像することができ、また、光学系の構造が複雑になるのを防止することができる。ただし、カメラモジュール 2 1 と試料保持部 2 3 が必ずしも対極に位置する必要はない。

【 0 0 4 6 】

上述した様に、本実施形態の分光蛍光光度計 1 は、試料の実態を反映した優れたスペクトルと試料画像の双方を取得することができ、測定の精度を向上させることができる。また、本実施形態の分光蛍光光度計 1 は、測定の利便性を向上させることができ、さらには分析の効率性を向上させることができる。特に、コンピュータ 3 1（制御部 3 2）が、光度計部 1 0 で得た各種の測定データ（スペクトル、試料画像など）を処理し、表示部 4 2 が、この処理した測定データに基づき、同一画面内で、検知器 1 6 により取得される各種のスペクトルと、カメラモジュール 2 1 により取得される試料画像と並べて画面表示をする。この結果、測定の利便性、分析の効率性をさらに向上させることができる。以下、そのような例を説明する。図 8 ～ 図 1 0 は、本実施形態の分光蛍光光度計 1 によっても得られる、二つの軸を含む二次元スペクトルと試料画像を並べて表示する画面表示の例を示している。

【 0 0 4 7 】

図 8 に分光蛍光光度計 1 の励起波長を変化させた際に得られる励起スペクトルと、この変化に連動してカメラモジュール 2 1 が取得した試料画像を並べて表示した一例を示す。励起スペクトルは横軸が試料に照射された励起光の波長、縦軸が特定の蛍光波長における蛍光強度である。試料に照射された励起光の波長に応じて、カメラモジュール 2 1 が、所

10

20

30

40

50

定の（一定の）波長間隔で試料を撮像する。コンピュータ 31（制御部 32）は、各試料画像を励起波長に対応させた複数の試料画像を含む試料画像一覧を生成し、表示部 42 が、励起スペクトルの励起波長軸に対応するように試料画像一覧を並べて表示する。試料画像一覧の左側等、適切な場所に白色光画像を表示しても良い。これにより、操作者は、励起スペクトルと試料画像一覧とを、対比しながら観察することが可能となり、各励起波長における試料の状態を容易に把握することができる。励起スペクトルにおける蛍光強度が強い場合、撮像された試料画像も明るく発光している状態となり、逆に蛍光強度が低い場合は試料画像も暗くなるなど、励起スペクトルを反映した試料画像が得られる。一方で、励起スペクトルは、固定された蛍光波長の強度を観測していたため、それ以外の蛍光波長の強度に対しての情報は得られないが、異なる励起波長における試料画像を取得することにより、試料の色味の変化や試料内の蛍光の分布などを把握することができる。

10

#### 【0048】

図 9 は、分光蛍光光度計 1 の励起波長を固定し蛍光波長を変化させた際に得られる蛍光スペクトルと、その励起波長においてカメラモジュール 21 が取得した試料画像の一例を示す。コンピュータ 31（制御部 32）は、当該励起波長における試料画像を特定し、表示部 42 が、蛍光スペクトルと試料画像一覧が並んだ態様で表示する。蛍光スペクトルは横軸が試料から放出した蛍光の波長、縦軸が蛍光の強度である。蛍光スペクトルは試料画像の発光色と相関性があるが平均的な情報であり、試料画像にて試料の色味や試料内の発光の分布を確認するにあたって有用な情報となる。また、蛍光波長に対応した色を表示する蛍光スペクトルバーも表示されている。

20

#### 【0049】

図 10 は、分光蛍光光度計 1 の励起波長と蛍光波長を固定し、蛍光強度の時間変化を測定する時間変化スペクトルと、所定の（一定の）時間間隔で取得した試料画像の一例を示す。時間変化スペクトルは横軸が時間、縦軸が蛍光強度である。試料への励起光の照射の開始後、カメラモジュール 21 が、所定の（一定の）時間間隔で試料を撮像する。コンピュータ 31（制御部 32）は、各試料画像を励起波長に対応させた複数の試料画像を含む試料画像一覧を生成し、表示部 42 が、時間変化スペクトルの測定時間軸に対応するように試料画像一覧を並べて表示する。これにより、操作者は、時間変化スペクトルと試料画像一覧とを、対比しながら観察することが可能となり、各測定時間における試料の状態を容易に把握することができる。

30

#### 【0050】

図 11 は、コンピュータ（制御部 32）が処理した、光度計部 10 が得た少なくとも各種のスペクトルと試料画像を含む測定データに基づき、表示部 42 が、同一画面内にスペクトル、試料画像等の情報を測定終了後に表示する例を示す。表示部 42 がこのような各種データが統合された統合形式の測定データ表示（統合データ表示）を提供することにより、操作者は各種データを一元的に把握し、試料の性質を容易に把握することが可能となる。

#### 【0051】

操作者が、操作パネル 41 から統合データ表示を表示する旨の入力をする、コンピュータ 31（制御部 32）が入力に対応した指示を表示部 42 に出力する。この出力を受けた表示部 42 は、1）画面の左上領域（A）（以下、「図 11（A）」という）に三次元蛍光スペクトル、2）画面の右上領域（B）（以下、「図 11（B）」という）に三次元蛍光スペクトルから切り出された励起スペクトル、3）画面の右下領域（C）（以下、「図 11（C）」という）に三次元蛍光スペクトルから切り出された蛍光スペクトル、4）画面の左下領域（D）（以下、「図 11（D）」という）に試料画像、それぞれをサブ画面の形式で表示する。ただし、いずれの領域にいずれのサブ画面を表示するかは自由であり、特に限定されない。また、本実施形態では領域の数（画面の分割数、サブ画面の数）は 4 つであるが、この数は特に限定されない。分割の形態も特に限定はされない。以下、図 11 の配置に基づき説明する。

40

#### 【0052】

50

図 1 1 ( A ) に示す三次元蛍光スペクトルは、図 5 ( a ) のものと同様にして得られる。すなわち、試料に対し、励起波長を固定した際の蛍光スペクトルを測定し、蛍光スペクトル走査が終了したら、蛍光波長を測定開始波長に戻し、励起波長を所定の波長間隔だけ駆動、次の励起波長における蛍光スペクトルを測定する。得られた蛍光スペクトルを励起波長、蛍光波長、蛍光強度の三次元で記憶し、励起波長が最終の波長に達するまで繰り返すことにより、三次元蛍光スペクトルを取得することができる。

#### 【 0 0 5 3 】

この時、励起波長は、5 nm から 1 0 nm 程度の間隔で駆動させ三次元蛍光スペクトルを取得する。この励起波長間隔に合わせてカメラモジュール 2 1 が試料画像を撮影する。コンピュータ 3 1 ( 制御部 3 2 ) は、励起波長に対応した複数の試料画像を含む試料画像一覧を生成する。そして、図 1 1 ( A ) に示す様に、表示部 4 2 が、励起波長に対応した励起波長軸 ( 縦軸 ) に合わせて試料画像一覧を示すことにより、操作者は、三次元蛍光スペクトル特性と各励起波長における試料画像を、対比しながら確認することができる。この時、図では三次元蛍光スペクトルの右側に励起波長に合わせて撮影した試料画像一覧を表示しているが、励起波長と対比しながら表示させることが好ましく、三次元蛍光スペクトルの左側に表示しても構わない。

#### 【 0 0 5 4 】

図 1 1 ( B ) は、図 1 1 ( A ) の I - I 線で切り出した励起スペクトルを表示している。コンピュータ 3 1 ( 制御部 3 2 ) が生成し、表示部 4 2 が表示する縦軸の I - I 線は、三次元蛍光スペクトルの蛍光波長軸 ( 横軸 ) の特定位置に相当する特定の蛍光波長を選択可能な選択ツールである。操作者が操作パネル 4 1 を用いて操作することにより、I - I 線を左右方向 ( 水平方向 ) に移動 ( スライド ) させ、停止した位置に相当する任意の蛍光波長を選択することが可能である。I - I 線は、蛍光波長を選択するいわば選択線であり、トレースバー等と言われることがある。

#### 【 0 0 5 5 】

I - I 線が停止した位置における図 1 1 ( A ) の三次元蛍光スペクトルの断面が、図 1 1 ( B ) の励起スペクトルに相当する。よって、操作者が図 1 1 ( A ) の I - I 線を、操作パネル 4 1 の操作により左右にずらし、蛍光波長を変化させることで、図 1 1 ( B ) の励起スペクトルが連動して変化する。本例では、図 1 1 ( A ) の I - I 線が 5 6 0 nm の蛍光波長を選択しており、図 1 1 ( B ) には 5 6 0 nm の蛍光波長に対する励起スペクトルが表示されている。また、試料画像は励起波長に連動して取得しているため、試料画像一覧は励起波長軸の下部に表示することが好ましい。

#### 【 0 0 5 6 】

図 1 1 ( C ) は、図 1 1 ( A ) の I I - I I 線で切り出した蛍光スペクトルを表示している。コンピュータ 3 1 ( 制御部 3 2 ) が生成し、表示部 4 2 が表示する横軸の I I - I I 線は、三次元蛍光スペクトルの励起波長軸 ( 縦軸 ) に相当する特定の励起波長を選択する選択ツールである。操作者が操作パネル 4 1 を用いて操作することにより、I I - I I 線を上下方向 ( 垂直方向 ) に移動 ( スライド ) させ、停止した位置に相当する任意の励起波長を選択することが可能である。I I - I I 線は、励起波長を選択するいわば選択線であり、トレースバー等と言われることがある。

#### 【 0 0 5 7 】

I I - I I 線が停止した位置における図 1 1 ( A ) の三次元蛍光スペクトルの断面が、図 1 1 ( C ) の蛍光スペクトルに相当する。よって、操作者が図 1 1 ( A ) の I I - I I 線を、操作パネル 4 1 の操作により上下にずらし、励起波長を変化させることで、図 1 1 ( C ) の蛍光スペクトルが連動して変化する。本例では、図 1 1 ( A ) の I I - I I 線が 4 5 5 nm の励起波長を選択しており、図 1 1 ( C ) には 4 5 5 nm の励起波長に対する蛍光スペクトルが表示されている。また、蛍光波長に対応した色を表示する蛍光スペクトルバーも表示されている。

#### 【 0 0 5 8 】

図 1 1 ( D ) は、試料画像を表示している。本例では左側に白色光画像、右側に蛍光画

10

20

30

40

50

像が表示される。白色光画像は常に一定である。蛍光画像は、図 1 1 ( A ) の I - I 線および I I - I I 線により選択された蛍光波長および励起波長における蛍光画像に相当し、本例では 4 5 5 n m の励起波長、5 6 0 n m の蛍光波長における蛍光画像が表示される。

【 0 0 5 9 】

尚、本例では、図 1 1 ( B ) において、I I - I I 線が選択中の励起波長 ( 4 5 5 n m ) を示す選択励起波長線 ( バー ) L 1 が示されている。また、図 1 1 ( C ) において、I - I 線が選択中の蛍光波長 ( 5 6 0 n m ) を示す選択蛍光波長線 ( バー ) L 2 が示されている。これらの選択線 L 1、L 2 は、励起スペクトル、蛍光スペクトル各々において、どの波長の試料画像が選択され、図 1 1 ( D ) で表示されているのかを容易に示すものである。I - I 線および I I - I I 線を移動させることにより、連動して選択線 L 1、L 2 も移動することが望ましい。また、図 1 1 ( A ) および図 1 1 ( B ) における試料画像一覧中の試料画像のいずれかを選択することにより、選択に対応するスペクトルを図 1 1 ( A ) ~ ( C ) に表示し、選択に対応して拡大した蛍光画像を図 1 1 ( D ) に表示してもよい。

10

【 0 0 6 0 】

なお、図 1 2 のように三次元蛍光スペクトルを図 1 2 ( B ) に配置し、図 1 2 ( A ) に励起スペクトルの切り出し、図 1 2 ( C ) に蛍光スペクトルの切り出し、図 1 2 ( D ) の位置に試料画像を表示しても良い。この配置とすることで、三次元蛍光スペクトルで表示している縦軸 ( 励起波長軸 ) と横軸 ( 蛍光波長軸 ) と三次元蛍光スペクトル切り出した励起スペクトルと蛍光スペクトルの対応性を把握しやすくなる。三次元蛍光スペクトルについては励起波長を横軸、蛍光波長を縦軸とする表示をすることもあるので、その際は切り出した励起スペクトルと蛍光スペクトルの位置も反転させても良い。

20

【 0 0 6 1 】

図 1 3 は、これまで示した各種のスペクトル等のデータの中で、励起スペクトルを取得する測定直前のスタンバイ中の測定画面の一例を示す。操作者が、操作パネル 4 1 を操作して所定の測定スタンバイの操作を行うと、表示部 4 2 は、測定画面として、測定表示エリア A 1、測定条件表示エリア A 2、ステータス表示エリア A 3、試料画像表示エリア A 4 を表示する。測定表示エリア A 1 は、取得した試料のデータに基づくスペクトルと試料画像一覧を表示する。測定条件表示エリア A 2 は、操作者が操作パネル 4 1 を用いて入力した測定条件を表示する。測定条件には、励起波長、蛍光波長、蛍光強度、励起スリット幅、蛍光スリット幅等が含まれる。ステータス表示エリア A 3 は、現在の分光蛍光光度計 1 の稼働状態に応じたステータスを表示する。試料画像表示エリア A 4 は、最新の更新された試料画像を表示する。スタンバイ中では、試料についてデータは得られていないため、測定表示エリア A 1 には何も表示されていない。

30

【 0 0 6 2 】

図 1 4 は、励起スペクトル測定中の測定画面の一例を示す。操作者が、操作パネル 4 1 を操作して所定の測定開始の操作を行うと、分光蛍光光度計 1 が測定を開始し、表示部 4 2 は、測定表示エリア A 1 に励起スペクトルの表示を開始する。併せて、カメラモジュール 2 1 が一定の励起波長間隔をもって試料画像を取得し、試料画像一覧が、励起スペクトルの励起波長軸に相当する位置に表示される。操作者は、前もって操作パネル 4 1 を用いて、測定条件である試料画像の励起波長あたりの撮影間隔を入力している。測定が完了すると、図 8 に示すように励起スペクトルと励起波長に応じた試料画像一覧が表示される。

40

【 0 0 6 3 】

尚、図 1 3、図 1 4 に示したのと同様の要領にて、図 9 に示す蛍光スペクトルを取得することができる。

【 0 0 6 4 】

図 1 5 は、時間変化測定中の測定画面の一例を示す。測定が開始されると、表示部 4 2 は、測定表示エリア A 1 に蛍光強度の時間変化を表示する。併せて、一定の時間間隔で試料画像が取得され、画像一覧表示が、時間変化の時間軸に相当する位置に表示される。操作者は、前もって操作パネル 4 1 を用いて、測定条件である試料画像の時間あたりの撮影

50

間隔を入力しておくこととする。測定が完了すると、図 10 に示すように蛍光強度の時間変化と時間に応じた試料画像一覧が表示される。

【0065】

図 16 は、三次元蛍光スペクトル測定中の測定画面の一例を示す。測定が開始されると、表示部 42 は、測定表示エリア A1 に三次元蛍光スペクトルを表示する。併せて、一定の励起波長間隔で試料画像が取得され、試料画像一覧が、三次元蛍光スペクトルの励起波長軸に相当する位置に表示される。操作者は、前もって操作パネル 41 を用いて、測定条件である試料画像の励起波長あたりの撮影間隔を入力しておくこととする。

【0066】

以上述べた操作のうち、図 8、図 9、図 16 に示すデータを取得した後、操作者が操作パネル 41 を操作して、所定の統合データ表示を作成する旨の操作を行う。すると、コンピュータ 31（制御部 32）が、これらのデータを処理し、出力指示を表示部 42 に出力する。これにより、表示部 42 は、図 11 に示す統合データ表示を行う。

【0067】

また、以上述べた操作のうち、図 9、図 10、図 5（b）に示すデータを取得した後、操作者が操作パネル 41 を操作して、所定の統合データ表示を作成する旨の操作を行う。すると、コンピュータ 31（制御部 32）が、これらのデータを処理し、出力指示を表示部 42 に出力する。これにより、表示部 42 は、図 17 に示す統合データ表示を行う。

【0068】

図 17 は、図 11 の例とは別バージョンとして位置付けられ、コンピュータ（制御部 32）が処理した、光度計部 10 が得た少なくとも各種のスペクトルと試料画像を含む測定データに基づき、表示部 42 が、同一画面内にスペクトル、試料画像等の情報を測定終了後に表示する例を示す。表示部 42 がこのような各種データが統合された統合形式の測定データ表示（統合データ表示）を提供することにより、操作者は各種データを一元的に把握し、試料の性質を容易に把握することが可能となる。

【0069】

操作者が、操作パネル 41 から統合データ表示を表示する旨の入力をする、コンピュータ 31（制御部 32）が入力に対応した指示を表示部 42 に出力する。この出力を受けた表示部 42 は、1）画面の左上領域（A）（以下、「図 17（A）」という）に三次元時間変化スペクトル、2）画面の右上領域（B）（以下、「図 17（B）」という）に三次元時間変化スペクトルから切り出された時間変化スペクトル、3）画面の右下領域（C）（以下、「図 17（C）」という）に三次元時間変化スペクトルから切り出された蛍光スペクトル、4）画面の左下領域（D）（以下、「図 17（D）」という）に試料画像、それぞれをサブ画面の形式で表示する。ただし、いずれの領域にいずれのサブ画面を表示するかは自由であり、特に限定されない。また、本実施形態では領域の数（画面の分割数、サブ画面の数）は 4 つであるが、この数は特に限定されない。分割の形態も特に限定はされない。以下、図 17 の配置に基づき説明する。

【0070】

図 17（A）に示す三次元時間変化スペクトルは、図 5（b）のものと同様にして得られる。すなわち、試料に対し、励起波長を固定した際の蛍光スペクトルを測定し、蛍光スペクトル走査が終了したら、蛍光波長を測定開始波長に戻し、一定時間経過後に蛍光スペクトルを測定する。得られた蛍光スペクトルを測定時間、蛍光波長、蛍光強度の三次元で記憶し、設定された測定時間に達するまで繰り返すことにより、三次元の時間変化スペクトルを取得する。この時、測定時間は、5 秒から 10 秒程度の間隔で駆動させ、三次元時間変化スペクトルを取得する。

【0071】

この測定時間間隔に合わせてカメラモジュール 21 が試料画像を撮影する。コンピュータ 31（制御部 32）は、測定時間に対応した複数の試料画像を含む試料画像一覧を生成する。そして、図 17（A）に示す様に、表示部 42 が、測定時間に対応した測定時間軸（縦軸）に合わせて試料画像一覧を示すことにより、操作者は、三次元時間変化スペクト

10

20

30

40

50

ル特性と各測定時間における試料画像を対比しながら確認することができる。この時、図では三次元時間変化スペクトルの右側に測定時間に合わせて撮影した試料画像一覧を表示しているが、測定時間と対比して表示させることが好ましいため、三次元時間変化スペクトルの左側に表示しても構わない。

【 0 0 7 2 】

図 1 7 ( B ) は、図 1 7 ( A ) の I - I 線で切り出した時間変化スペクトルを表示している。コンピュータ 3 1 ( 制御部 3 2 ) が生成し、表示部 4 2 が表示する縦軸の I - I 線は、三次元時間変化スペクトルの横軸の特定位置に相当する特定の蛍光波長を選択する選択ツールである。操作者が操作パネル 4 1 を用いて操作することにより、I - I 線を左右方向 ( 水平方向 ) に移動 ( スライド ) させ、停止した位置に相当する任意の蛍光波長を選択することが可能である。I - I 線は、蛍光波長を選択するいわば選択線であり、トレーサバー等と言われることがある。

10

【 0 0 7 3 】

I - I 線が停止した位置における図 1 7 ( A ) の三次元時間変化スペクトルの断面が、図 1 7 ( B ) の時間変化スペクトルに相当する。よって、操作者が図 1 7 ( A ) の I - I 線を、操作パネル 4 1 の操作により左右にずらし、蛍光波長を変化させることで、図 1 7 ( B ) の励起スペクトルが連動して変化する。本例では、図 1 7 ( A ) の I - I 線が 5 4 0 n m の蛍光波長を選択しており、図 1 7 ( B ) には 5 4 0 n m の蛍光波長に対する時間変化スペクトルが表示されている。また、試料画像は測定時間に連動して取得しているため、試料画像一覧は測定時間の軸の下部に表示することが好ましい。

20

【 0 0 7 4 】

図 1 7 ( C ) は、図 1 7 ( A ) の I I - I I 線で切り出した蛍光スペクトルを表示している。コンピュータ 3 1 ( 制御部 3 2 ) が生成し、表示部 4 2 が表示する横軸の I I - I I 線は、三次元時間変化スペクトルの縦軸に相当する特定の測定時間を選択する選択ツールである。操作者が操作パネル 4 1 を用いて操作することにより、I I - I I 線を上下方向 ( 垂直方向 ) に移動 ( スライド ) させ、停止した位置に相当する任意の測定時間を選択することが可能である。I I - I I 線は、測定時間を選択するいわば選択線であり、トレーサバー等と言われることがある。

【 0 0 7 5 】

I I - I I 線が停止した位置における図 1 7 ( A ) の三次元時間変化スペクトルの断面が、図 1 7 ( C ) の蛍光スペクトルに相当する。よって、操作者が図 1 7 ( A ) の I I - I I 線を、操作パネル 4 1 の操作により上下にずらし、測定時間を変化させることで、図 1 7 ( C ) の蛍光スペクトルが連動して変化する。本例では、図 1 7 ( A ) の I I - I I 線が 3 0 0 秒の測定時間を選択しており、図 1 7 ( C ) には 3 0 0 秒の測定時間に対する蛍光スペクトルが表示されている。また、蛍光波長に対応した色を表示する蛍光スペクトルバーも表示されている。

30

【 0 0 7 6 】

図 1 7 ( D ) は、試料画像を表示している。本例では左側に白色光画像、右側に蛍光画像が表示される。白色光画像は、例えば測定前に取得したものを表示してもよい。蛍光画像は、図 1 7 ( A ) の I - I 線および I I - I I 線により選択された蛍光波長および測定時間における蛍光画像に相当し、本例では 5 4 0 n m の蛍光波長、3 0 0 秒の測定時間における蛍光画像が表示される。

40

【 0 0 7 7 】

尚、本例では、図 1 7 ( B ) において、I I - I I 線が選択中の測定時間 ( 3 0 0 秒 ) を示す選択測定時間線 ( バー ) L 3 が示されている。また、図 1 7 ( C ) において、I - I 線が選択中の蛍光波長 ( 5 4 0 n m ) を示す選択蛍光波長線 ( バー ) L 2 が示されている。これらの選択線 L 3、L 2 は、時間変化スペクトル、蛍光スペクトル各々において、どの時間または波長の試料が選択され、図 1 7 ( D ) で表示されているのかを容易に示すものである。I - I 線および I I - I I 線を移動させることにより、連動して選択線 L 3、L 2 も移動することが望ましい。また、図 1 7 ( A ) および図 1 7 ( B ) における試料

50

画像一覧中の試料画像のいずれかを選択することにより、選択に対応するスペクトルを図 17 (A) ~ (C) に表示し、選択に対応して拡大した蛍光画像を図 17 (D) に表示してもよい。

#### 【0078】

図 18 および図 19 は、分光蛍光光度計 1 の他の実施形態を示す。本実施形態においても、試料保持部 23 は、励起光が直接照射されない位置にあるが、図 6 の構成とは異なり、積分球 20 のポート P4 の位置に設置されている。そして、図 1 の構成にはないビームスプリッタ 13a が、ポート P4 に対極するポート P2 に対向する位置に設けられている。そして、カメラモジュール 21 は、積分球 20 ではなく、ビームスプリッタ 13a で分光され、90 度方向に曲げられた蛍光が入射する位置、すなわち積分球 20 の外側に設けられている。すなわち、カメラモジュール 21 は、試料から放出し積分球 20 の内面で散乱した後、積分球 20 から出射、ビームスプリッタ 13a で分光された蛍光を捉えて試料画像を撮像する。

10

#### 【0079】

すなわち、本構成では、蛍光を取り出すポートとカメラモジュール 21 に光を取り込むポートとして共通のポート P2 を使用するため、検知器 16 とカメラモジュール 21 は、積分球 20 に設けられた共通のポート P2 を通過した蛍光を捉えることになる。そのため、積分球 20 の開口部は 2 箇所（ポート P1、P2）となり、図 6 の形態における開口部の数（ポート P1、P2、P6 の 3 箇所）より減ることになる。開口部の数が多いと光量のロスにつながるため、蛍光スペクトルおよび試料画像におけるノイズの増大につながるおそれがある。本構成を用いることにより、開口部の数を減らし、光量のロスを低減し、ノイズを低減することができる。また、蛍光スペクトルと試料画像を同じ光路上で取得することができる。

20

#### 【0080】

図 20 は、試料画像の背景処理に関する実施例を示す。本測定系にて試料画像を取得すると、試料画像内では試料部分と積分球 20 の内面（内壁）の領域が発現する。カメラモジュール（撮像装置）21 の撮像素子が可視領域に所定の感度を有する場合（可視領域撮像装置）、可視領域が撮影対象となり、カラーの試料画像が得られる。分光蛍光光度計 1 は、紫外・可視・近赤外領域を測定対象とすることができるため、紫外領域に所定の感度を有する撮像素子（紫外領域撮像装置）、近赤外領域に所定の感度を有する撮像素子（近赤外領域撮像装置）を使用することにより、それら波長領域に対応する試料画像を取得することも可能である。撮像素子は、紫外領域撮像装置、可視領域撮像素子、近赤外領域撮像素子のそれぞれを目的に応じて単独で用いてもよいし、複数を組み合わせて用いてもよい。試料に励起光を照射した際、試料部分からは試料における励起光の反射光や蛍光が試料画像情報として得られる。なお、試料に吸収特性がある場合は、吸収の影響があるため、この部分は励起光と蛍光および吸収が加味された画像となる。

30

#### 【0081】

一方、積分球 20 の内面は白色素材で覆われているため、吸収の影響はほぼ無く、この部分は励起光の単色光に相当する画像となる。積分球の内面部分の白色素材によっては、波長領域によって吸収の影響がある場合があり、この時には励起光の単色光の反射と積分球 20 の内面の白色素材の吸収の影響が加味された画像となる。試料部分の領域（試料領域）と積分球 20 の内面の領域（積分球内面領域）の波長特性は異なるため、それぞれの領域は異なる明度、色味の画像となる。積分球内面領域の明度は励起光の強さに相当し、色味は励起光の波長に相当するため有用な情報となる。一方で、試料領域の画像に着目したい場合、積分球内面領域は背景の領域に相当するため、励起波長を変化させた際に生じる背景の明度や色味の変化により、対比錯視が生じ試料領域の明度や色味を正確に視認することが困難になる。

40

#### 【0082】

そこでコンピュータ 31（制御部 32）は、試料画像において試料領域の座標および積分球内面領域の座標を設定し、積分球内面領域の座標を基に、この領域を背景として登録

50



する。そして、コンピュータ 31 (制御部 32) は、異なる励起波長条件下における背景色を特定の色に統一して塗りつぶし、処理後の画像を表示部 42 が表示する背景処理を実施する。これにより、励起波長の変化に伴う背景色を統一することができ、対比錯視の影響なく試料領域の明度や色味を比較することが可能となる。図 20 は、背景色を黒に統一または白に統一した図を例示しているが (二段目及び三段目)、背景は任意の色とすることができる。励起波長の変化に伴う積分球内面領域の明度・色味を比較したい際には、試料領域の座標を統一した色で塗りつぶし表示してもよい (最下段の白の例)。背景色の比較が容易となる。

#### 【0083】

図 21 ~ 図 23 は、表示部 42 が、複数の試料の各々に対応した各種のスペクトルと試料画像を、同一画面内で並べて表示する例を示す。図 21 は、複数の試料における励起スペクトルと試料画像の測定結果を重ねて表示した際の表示例を示す。表示部 42 は、複数の試料の励起スペクトルを重ねて表示し、試料画像一覧には、試料毎の各励起波長における試料画像を並べて表示する。

10

#### 【0084】

図 22 は、複数の試料における蛍光スペクトルと試料画像の測定結果を重ねて表示した際の表示例を示す。表示部 42 は、複数の試料の蛍光スペクトルを重ねて表示し、試料画像一覧には、試料毎の試料画像を並べて表示する。

#### 【0085】

図 23 は、複数の試料における時間変化スペクトルと試料画像の測定結果を重ねて表示した際の表示例を示す。表示部 42 は、複数の試料の時間変化スペクトルを重ねて表示し、試料画像一覧には、試料毎の各測定時間における試料画像一覧を並べて表示する。

20

#### 【0086】

操作者は、図 21 ~ 図 23 の表示を観察することにより、複数の試料について、各種の情報を容易に比較することが可能となり、試料間の性質の違いを容易に把握することが可能となる。

#### 【0087】

図 24 は、反射スペクトルと試料画像の表示例を示す。反射スペクトルを測定する際には、積分球 20 に、試料を保持する試料保持部 23 の代わりに基準反射物として高反射率の白色素材 (酸化アルミニウムや PTFE 樹脂板など) を設置する。そして、基準反射物に分光した光を順次照射し、同一の波長における光量を 100% の値としてベースラインを取得する。その後、積分球 20 に試料を収容した試料保持部 23 を設置し、試料から反射する光量の変化をベースラインの光量と比演算し、反射率を計測する。表示部 42 が、反射率に基づく反射スペクトルと試料画像一覧を並べて表示する。

30

#### 【0088】

図 25 は、積分球 20 のさらに他の実施形態を示し、微小領域の試料画像を取得するために好適な積分球 20 の構成である。本実施形態の積分球 20 には、黒色円板に任意の大きさの穴 24a が設けられた平板状のアパーチャー 24 が、試料保持部 23 と、積分球 20、特に試料保持部 23 とを設置するポート P5 との間に設置されている。アパーチャー 24 は、試料から放出される蛍光を部分的に遮蔽する役割があり、アパーチャー 24 の穴 24a の大きさ (径) が小さくなると、遮蔽される蛍光の量が増え、放出される蛍光の量が小さくなり、蛍光スペクトルと試料画像の S/N 比に応じて、アパーチャー 24 の穴 24a の径を決定することができる。例えば、高蛍光強度を有する LED 用蛍光体では、強い蛍光を発するため、積分球 20 の内径が 60 mm、ポート P5 の径が 20 mm の場合、アパーチャー 24 の外径はポート P5 をふさぐ大きさである 20 mm とし、その中心部に設ける穴 24a の大きさは 1 mm 程度まで小さくすることが可能である。

40

#### 【0089】

図 26 は、アパーチャー 24 の有無による試料画像の比較を示す。アパーチャー 24 を設けることにより、微小領域の試料画像に着目することが可能となる。試料内の蛍光物質の分布が不均一な場合、局所的な情報を得ることにより、局所部分の情報のみを取得する

50

ことが可能である。局所部分のみを観察することになるため、同一視野の場合、試料領域における画素数が少なくなる欠点がある。この問題は、アパーチャー 24 の穴 24 a の大きさに応じて、カメラモジュール 21 に搭載するレンズについて焦点距離の合ったズームレンズを使用することにより解決される。

【0090】

本発明の分光蛍光光度計は積分球を搭載し、積分球に設置した試料について、各種のスペクトルを取得しつつ、試料の蛍光画像をも取得する。試料は、積分球において励起光が直接照射されない位置に設置され、試料には積分球の内面で拡散反射した励起光が照射される。これにより、ムラを抑え励起光により、均一な状態で生じる蛍光により得られるスペクトルおよび試料画像を観察することができる。

10

【0091】

さらに、本発明の分光蛍光光度計は、制御部が、蛍光の強度を示す各種のスペクトルと試料画像を含む測定データを処理することにより、表示部がスペクトルと試料画像とを、同一画面内で並べて表示することが可能である。これにより、測定の利便性、分析の効率性をさらに向上させることができる。

【0092】

また、本発明によれば、蛍光を検知してその信号強度とともに試料の試料画像を同時に取得する分光蛍光測定及び画像撮像方法が提供される。当該方法は、励起光を積分球の内面に入射させ、内面にて散乱した励起光を測定対象の試料に照射し、励起光が照射した試料から放出された蛍光を検知し、蛍光を放出する試料の試料画像を撮像するものである。これにより、測定の利便性、分析の効率性をさらに向上させることができる。

20

【0093】

尚、上述の説明においては、制御部 32 が処理し、表示部 42 が表示する測定データは、光度計部 10 から得られたものであり、分光蛍光光度計 1 の測定データが処理及び表示の対象となる。しかしながら、本実施形態で述べた表示部 42 の各種の処理態様は、分光蛍光光度計の測定データのみには適用されるものではない。すなわち、本発明の概念は、試料に光を照射して試料を分析する一般的な光分析装置に適用可能であり、この光分析装置の測定結果を表示する、光分析装置用の表示装置として本発明を把握することも可能である。一般的な光分析装置には、分光蛍光光度計のみならず、分光光度計、蛍光光度計、X線測定装置、その他の装置が含まれる。

30

【0094】

上記の光分析装置用の表示装置は、一般的な制御部と、制御部が処理した測定データに基づく画像を表示する表示部とを含むものであり、測定データには、光の照射により試料が放出する出射光の強度を示すスペクトルと、撮像装置が撮像した試料の試料画像が少なくとも含まれる。上述の実施形態においては、出射光の強度は蛍光の強度に相当するものである。そして、表示部が、図 8 ~ 図 10 に示す実施形態の様に、スペクトルと試料画像とを、同一画面内で並べて表示する。

【0095】

図 8 に示す例と同様にして、制御部は、励起波長軸や蛍光波長軸に相当する各種の光の波長軸の各波長に対応した複数の試料画像を含む試料画像一覧を生成する。表示部は、この波長軸に対応するように、試料画像一覧を並べて表示すればよい。図 10 に示す例と同様にして、制御部は、測定時間軸の各測定時間に対応した複数の試料画像を含む試料画像一覧を生成し、表示部は、スペクトルの測定時間軸に対応するように、試料画像一覧を並べて表示してもよい。

40

【0096】

ここでの光分析装置用の表示装置は、図 11 (A) に示す様な三次元スペクトルも表示可能である。この三次元スペクトルは、第 1 の波長軸、第 2 の波長軸、スペクトル強度軸を含むものである。第 1 の波長軸は実施形態の励起波長軸に相当し、試料への入射光の波長に対応する。第 2 の波長軸は実施形態の蛍光波長軸に相当し、試料からの出射光の波長に対応する。スペクトル強度軸は、第 1 の波長軸と第 2 の波長軸によって定まる出射光の

50

強度に対応する。尚、第1の波長軸、第2の波長軸とは異なり、スペクトル強度軸は明確に軸の形で表されていないが、紙面に垂直な方向に伸びる仮想的な軸に相当し、本実施形態においては当該軸に対応した等高線が表現されている。

#### 【0097】

制御部は、図11(A)に示す例と同様に、第1の波長軸と第2の波長軸の少なくともいずれかの各波長に対応した複数の試料画像を含む試料画像一覧を生成し、表示部は、第1の波長軸と第2の波長軸のいずれかに対応するように、試料画像一覧を並べて表示する。

#### 【0098】

また、ここでの光分析装置用の表示装置は、図17(A)に示す様な三次元スペクトルも表示可能である。この三次元スペクトルは、波長軸と、測定時間軸と、スペクトル強度軸を含むものである。波長軸は実施形態の蛍光波長軸に相当し、試料への入射光の波長に対応するが、試料からの出射光の波長に対応したものであってもよい。測定時間軸は実施形態のものと同じである。スペクトル強度軸は、波長軸と測定時間軸によって定まる出射光の強度に対応する。尚、波長軸、測定時間軸とは異なり、スペクトル強度軸は明確に軸の形で表されていないが、紙面に垂直な方向に伸びる仮想的な軸に相当し、本実施形態においては当該軸に対応した等高線が表現されている。

#### 【0099】

制御部は、図17(A)に示す例と同様に、測定時間軸の各測定時間に対応した複数の試料画像を含む試料画像一覧を作成するが、波長軸の各波長に対応した試料画像一覧を作成してもよい。表示部は、波長軸と測定時間軸のいずれかに対応するように、試料画像一覧を並べて表示する。

#### 【0100】

さらにここでの光分析装置用の表示装置は、図11、図17に示す様な統合形式の測定データ表示(統合データ表示)を提供することも可能である。制御部が、図11(B)および(C)または図17(B)および(C)に相当する第1の二次元スペクトルと第2の二次元スペクトルを生成する。さらに制御部は、図11(A)または図17(A)に相当する第1の二次元スペクトル及び第2の二次元スペクトルに含まれる三つの軸から構成される三次元スペクトルを生成する。図11、図17に示す様に、表示部は、第1の二次元スペクトルと、第2の二次元スペクトルと、三次元スペクトルと、試料画像とを同一画面内で並べて表示する。さらに制御部は、第1の二次元スペクトルと、第2の二次元スペクトルと、三次元スペクトルとのいずれかの軸に対応した複数の試料画像を含む試料画像一覧を生成し、表示部は、軸に対応するように、試料画像一覧を並べて表示することが可能である。

#### 【0101】

尚、本発明は、上述した実施形態に限定されるものではなく、適宜、変形、改良、等が可能である。その他、上述した実施形態における各構成要素の材質、形状、寸法、数値、形態、数、配置箇所、等は本発明を達成できるものであれば任意であり、限定されない。

#### 【産業上の利用可能性】

#### 【0102】

本発明に係る分光蛍光光度計および光分析装置の表示装置は、試料の実態を反映した優れたスペクトルと試料画像の双方を取得するとともに、測定の利便性を向上させることができ、さらには分析の効率性を向上させることができる。よって、光を用いた試料の分析技術がさらに洗練されたものとなる。

#### 【符号の説明】

#### 【0103】

- 1 分光蛍光光度計
- 10 光度計部
- 11 光源
- 12 励起側分光器

10

20

30

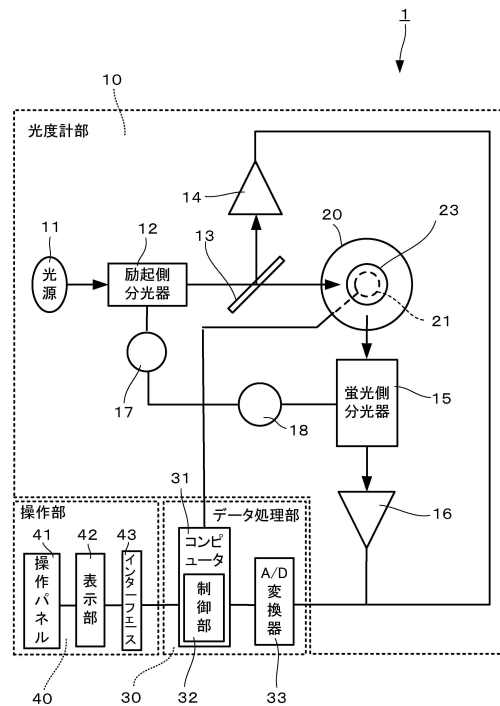
40

50

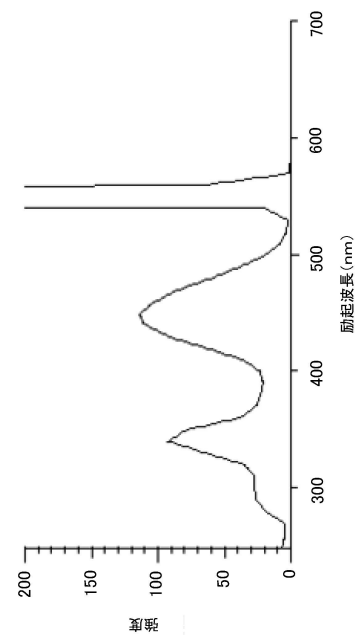
- 1 3 ビームスプリッタ
- 1 4 モニタ検知器
- 1 5 蛍光側分光器
- 1 6 検知器
- 2 0 積分球
- 2 1 カメラモジュール（撮像装置）
- 2 2 白板
- 2 3 試料保持部
- 2 4 アパーチャー
- 3 0 データ処理部
- 3 1 コンピュータ
- 3 2 制御部
- 4 0 操作部

10

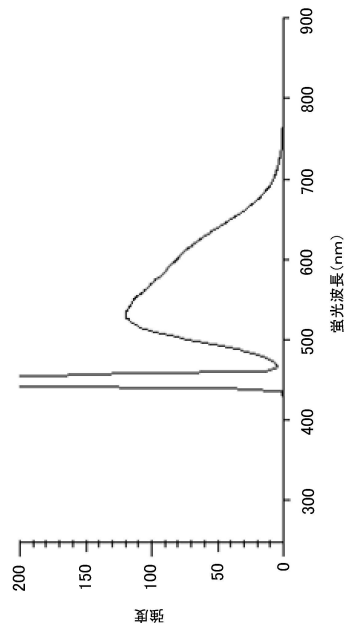
【図 1】



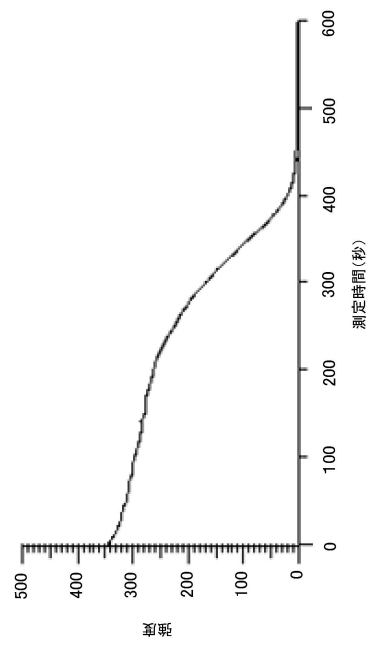
【図 2】



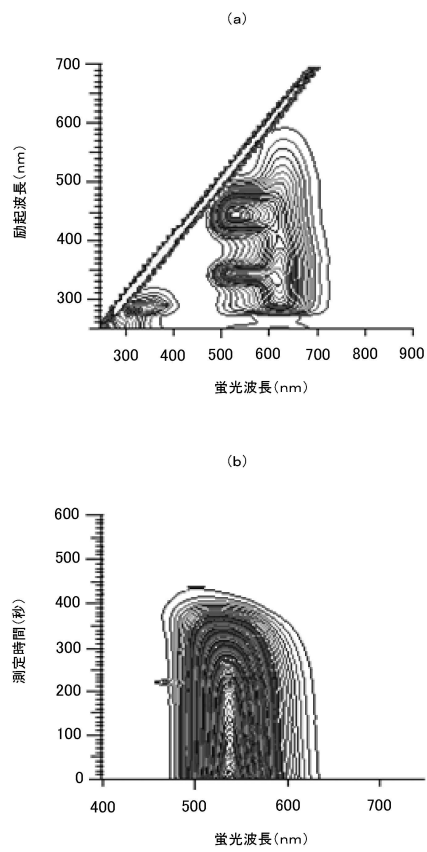
【図 3】



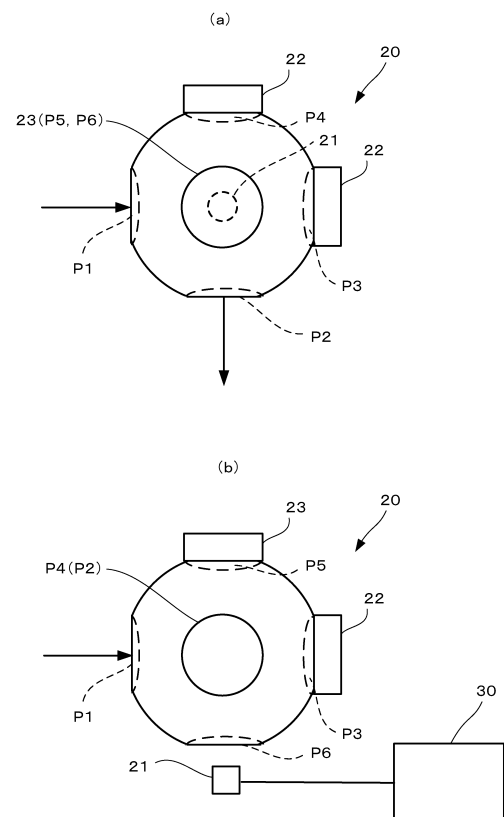
【図 4】



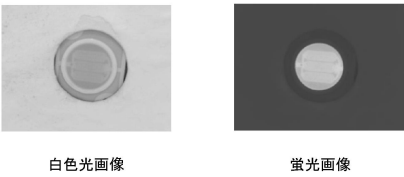
【図 5】



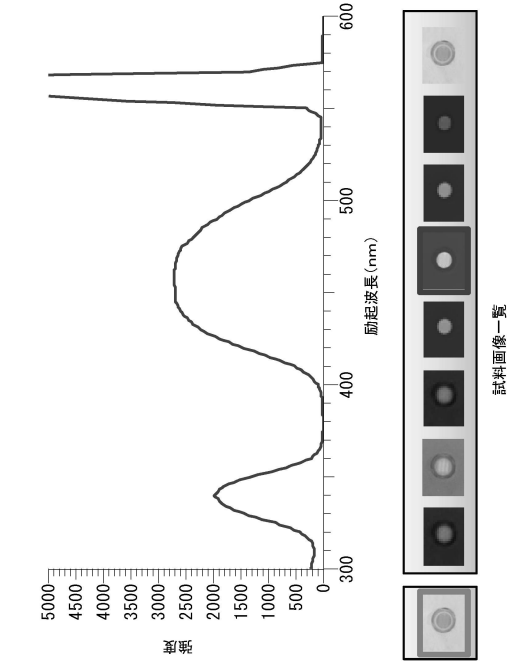
【図 6】



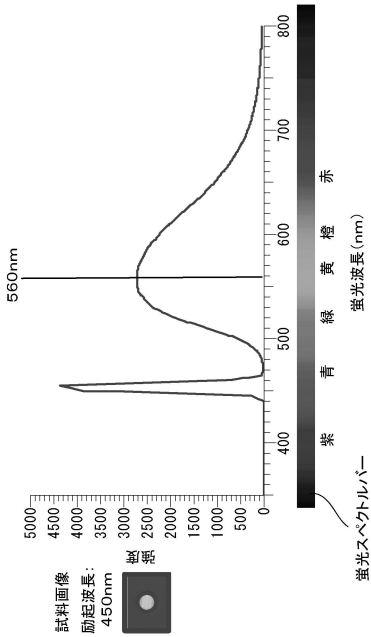
【 図 7 】



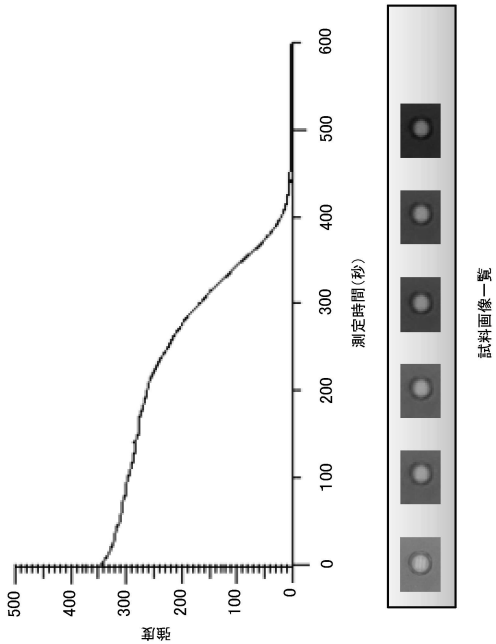
【 図 8 】



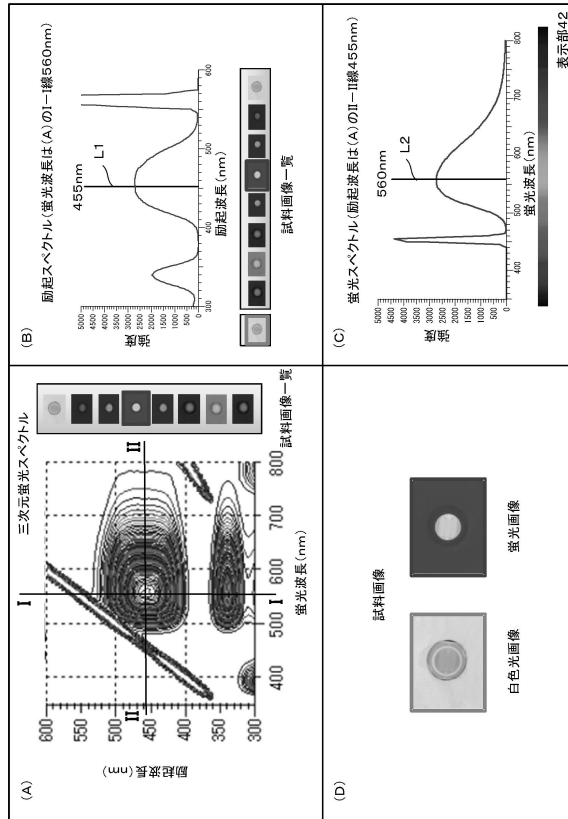
【 図 9 】



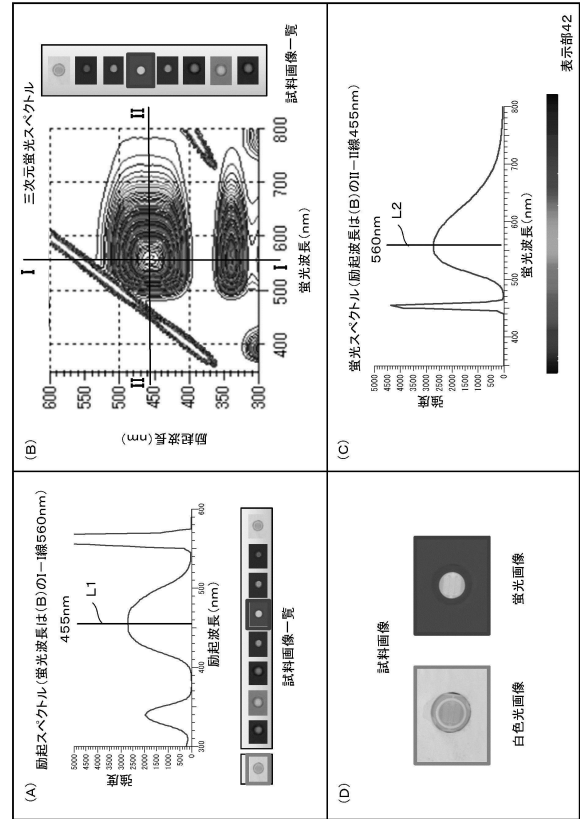
【 図 1 0 】



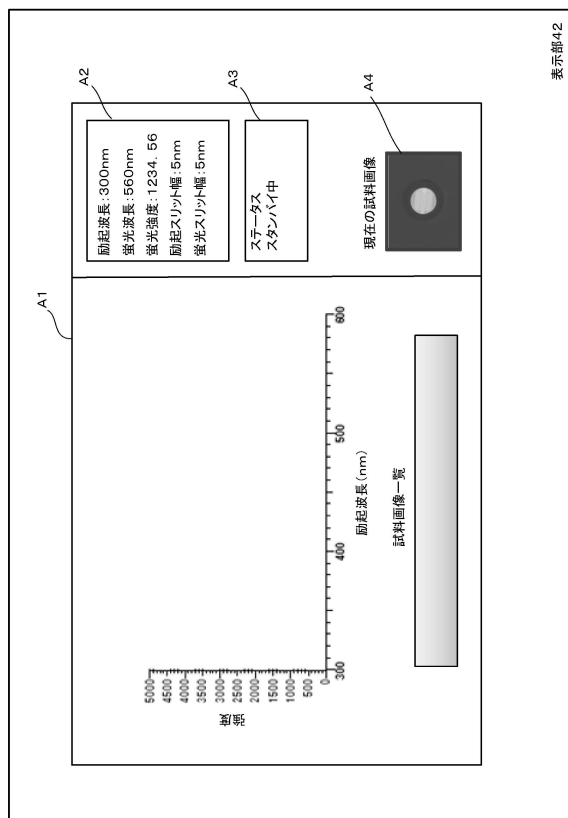
【図 1 1】



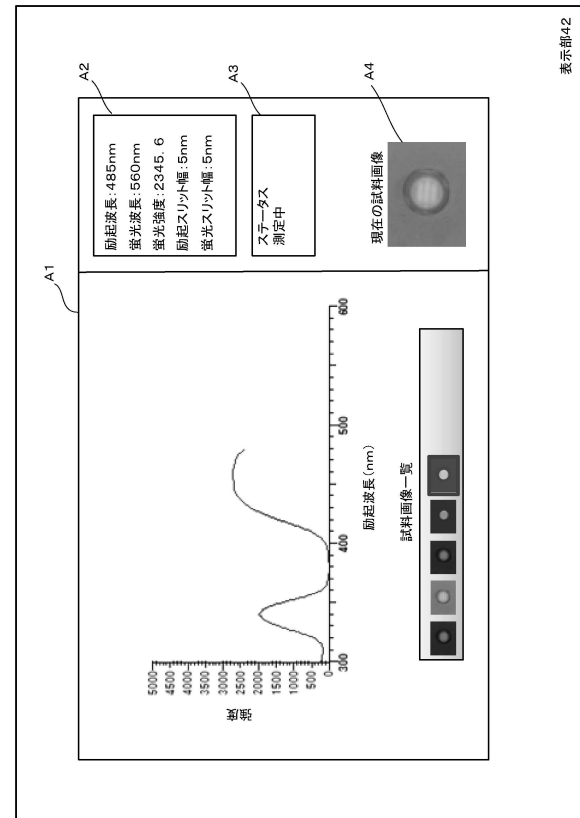
【図 1 2】



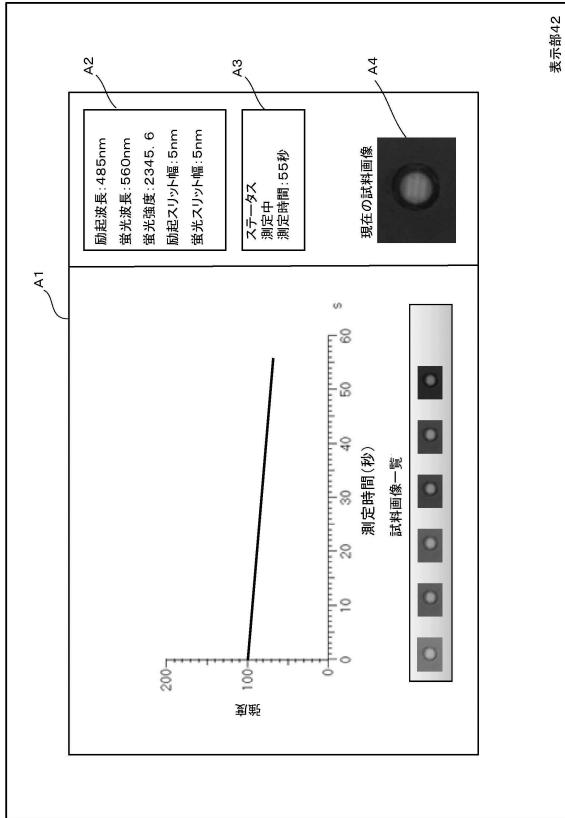
【図 1 3】



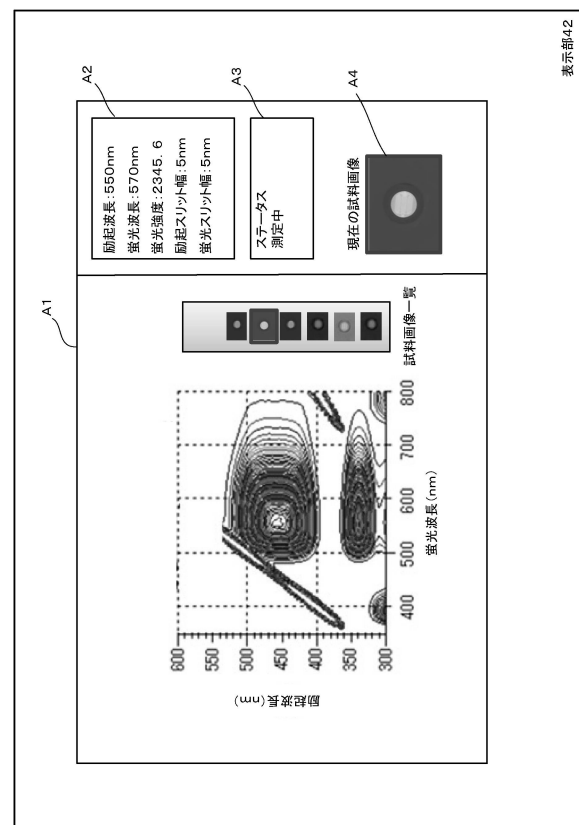
【図 1 4】



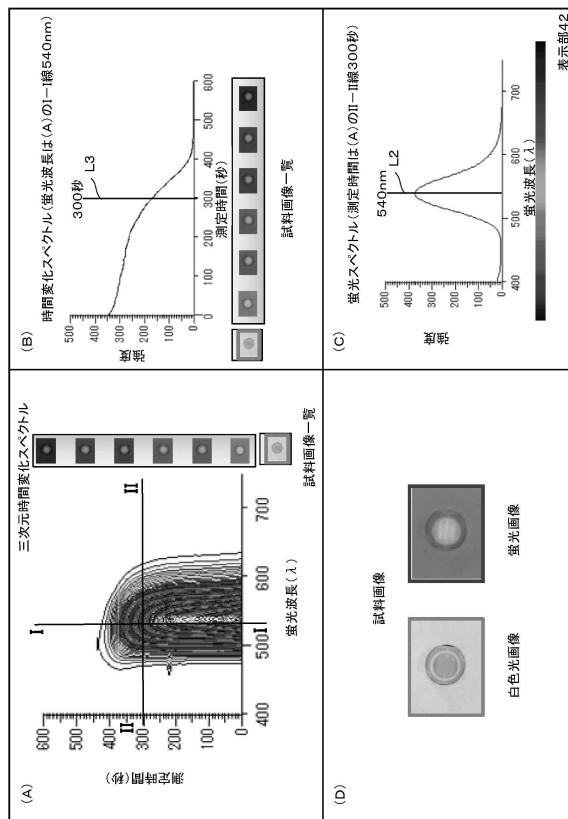
【図 15】



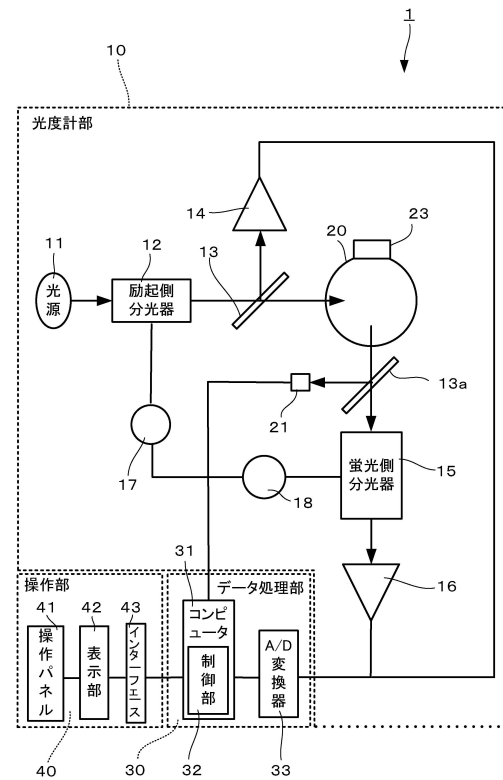
【図 16】



【図 17】

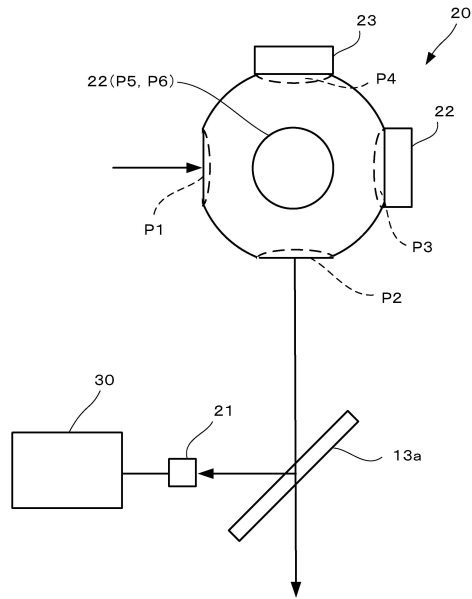


【図 18】

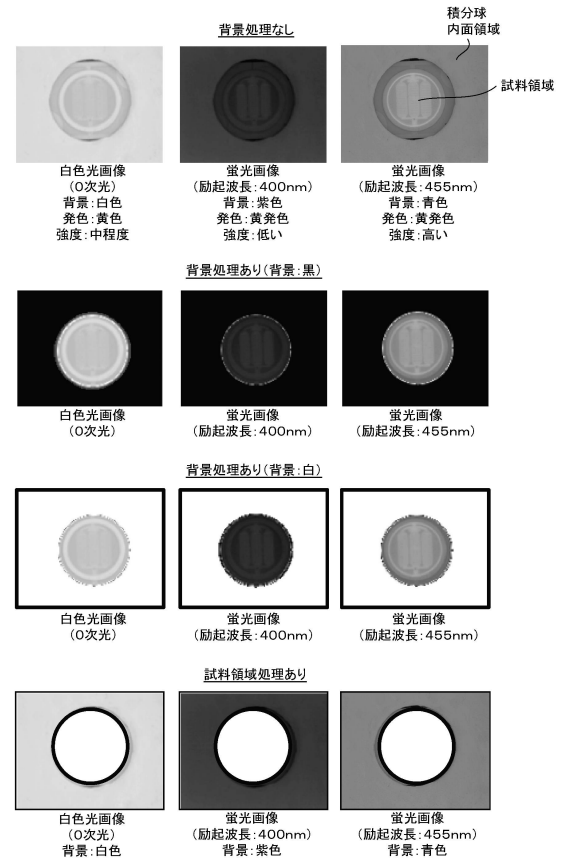




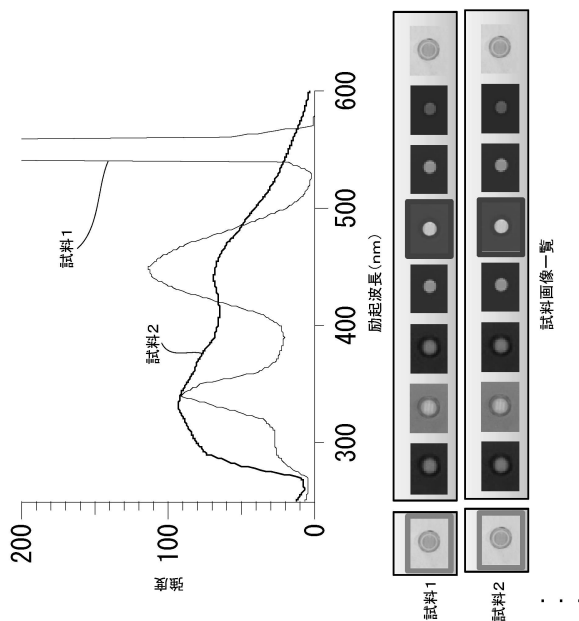
【図 19】



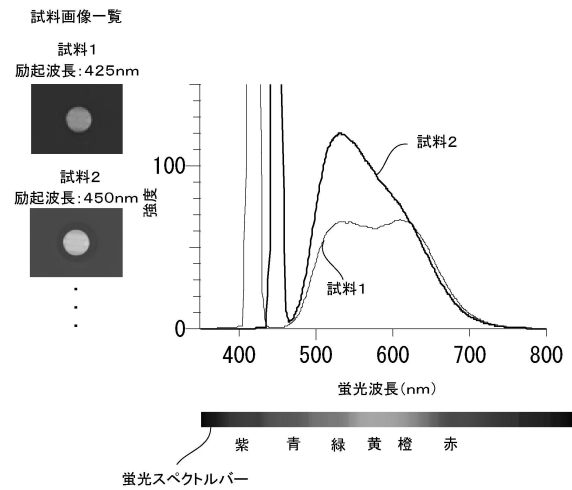
【図 20】



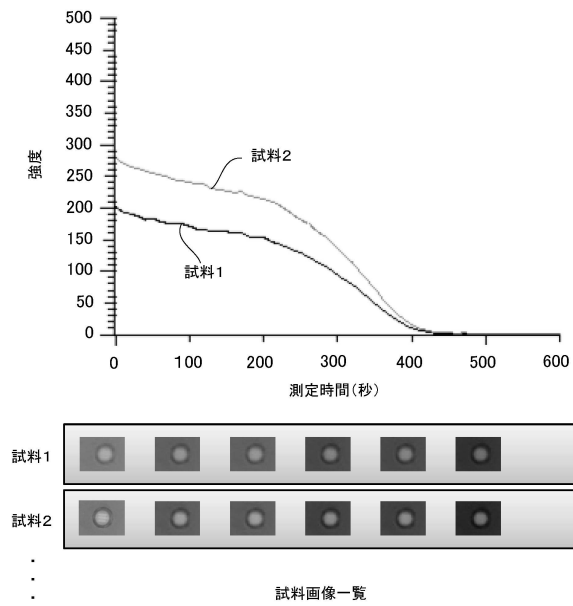
【図 21】



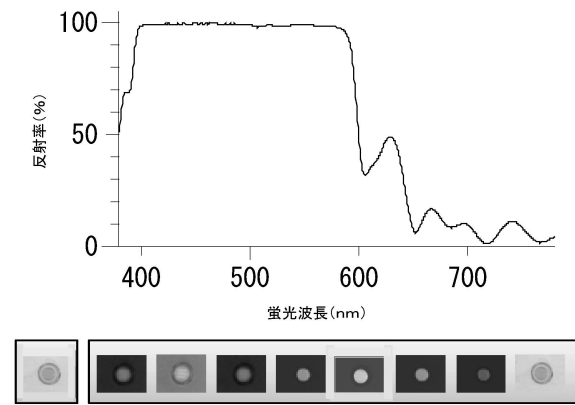
【図 22】



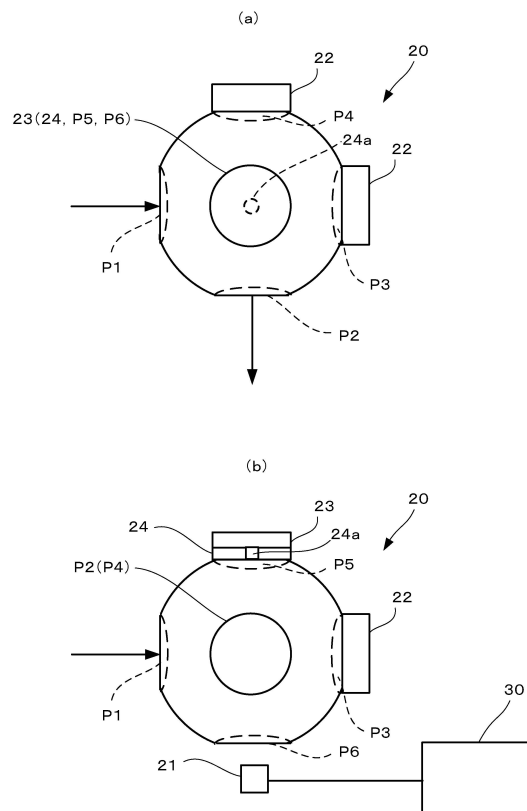
【図 2 3】



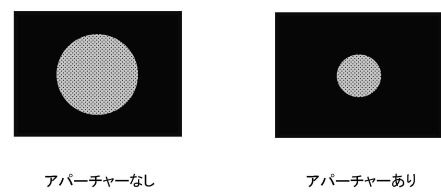
【図 2 4】



【図 2 5】



【図 2 6】



---

フロントページの続き

審査官 田中 洋介

(56)参考文献 特開2007-232716(JP,A)  
特開2005-204958(JP,A)  
特開2008-261885(JP,A)  
特開2005-319211(JP,A)  
特開2010-276362(JP,A)  
特開2012-007930(JP,A)  
特開2017-026495(JP,A)  
国際公開第2013/190618(WO,A1)  
米国特許第05097135(US,A)  
米国特許出願公開第2008/0173804(US,A1)

(58)調査した分野(Int.Cl., DB名)  
G01N 21/00 - 21/958  
G01J 3/00 - 3/52