

UV

TALK LETTER

Vol. 14
September 2014



粉末試料の拡散反射測定とクベルカ・ムンク (Kubelka-Munk) 変換 …… P. 2

アプリケーション 食品のカラー測定 …… P. 6

Q&A 紫外可視分光光度計で分析するときに設定する分析条件の『スキャンスピード』はデータにどのような影響を及ぼすのでしょうか? …… P. 8

UV TALK LETTER

粉末試料の拡散反射測定と クベルカ・ムンク (Kubelka-Munk) 変換

紫外可視分光光度計で粉末試料を測定する手法として拡散反射法があります。積分球を使って、拡散反射光を集めて測定を行います。透過率は吸光度に変換すると濃度や吸光係数に比例しますが、拡散反射測定では拡散反射率をクベルカ・ムンク (Kubelka-Munk) 変換すると濃度や吸光係数に比例します。透過率-吸光度変換との違いを比較しながらクベルカ・ムンク変換について解説します。

1. 透過測定とランバート・ベアーの法則

まず透過測定とランバート・ベアーの法則 (JIS規格における表記) について解説します。

図1に液体試料の透過測定の様式図を示します。実際には、セルによる表面反射や溶媒による吸収もありますが、ベースライン補正やオートゼロで補正可能ですので、この図では省略しています。

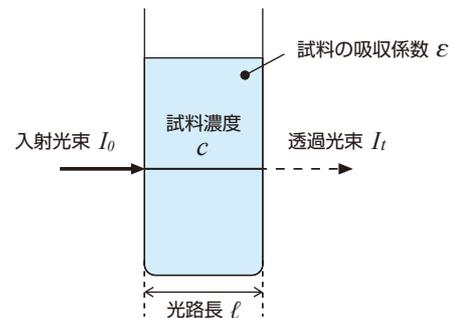


図1 単色光が溶液試料を透過する様式図

単色光が試料を透過するとき図1に示す入射光束の強度 (I_0) と試料を透過した透過光束の強度 (I_t) の比を透過度 (t) といいます。透過率 (%T) は透過度を百分率で示したものです。式(1.1)で表されます。

$$\text{透過度}(t) = \frac{I_t}{I_0} \quad \dots\dots \text{式(1.1)}$$

このとき試料の吸収係数を ϵ 、試料濃度を c 、長さ(光路長)を ℓ とすると、 I_0 と I_t の間には式(1.2)の関係が成り立ちます。

$$\text{透過率}(\%T) = \frac{I_t}{I_0} \times 100$$

一方、吸光度 (A) は、どれくらい光が吸収されたかを示す値です。透過度の常用対数を取り、負号を付けたもので式(1.3)で表されます。

$$I_t = I_0 \times 10^{-\epsilon c \ell} \quad \dots\dots \text{式(1.2)}$$

この式(1.3)に式(1.2)を代入すると、式(1.4)となり吸光度は、吸収係数 (ϵ)、濃度 (c)、光路長 (ℓ) を乗算した値であることがわかります。この関係をランバート・ベアーの法則といいます。溶液の透過測定を例に示しましたが固体の透過測定においても同様に吸光度は吸収係数 (ϵ)、濃度 (c)、厚さ (ℓ) に比例します。

$$\text{吸光度}(A) = -\log t = -\log \frac{I_t}{I_0} = \log \frac{I_0}{I_t} \quad \dots\dots \text{式(1.3)}$$

$$\text{吸光度}(A) = \log \frac{I_0}{I_0 \times 10^{-\epsilon c \ell}} = \log \frac{1}{10^{-\epsilon c \ell}} = \log 10^{\epsilon c \ell} = \epsilon c \ell \quad \dots\dots \text{式(1.4)}$$

2. 粉末試料の拡散反射測定

一方、粉末の拡散反射測定では光の経路が異なります。図2に粉末試料に光が照射された際の様子(模式図)を示します。粉末試料から反射する光は試料表面で反射する正反射光と、試料の内部に侵入し屈折、透過、散乱を繰り返した後、表面から出てくる拡散反射光の2種類に分けられます。

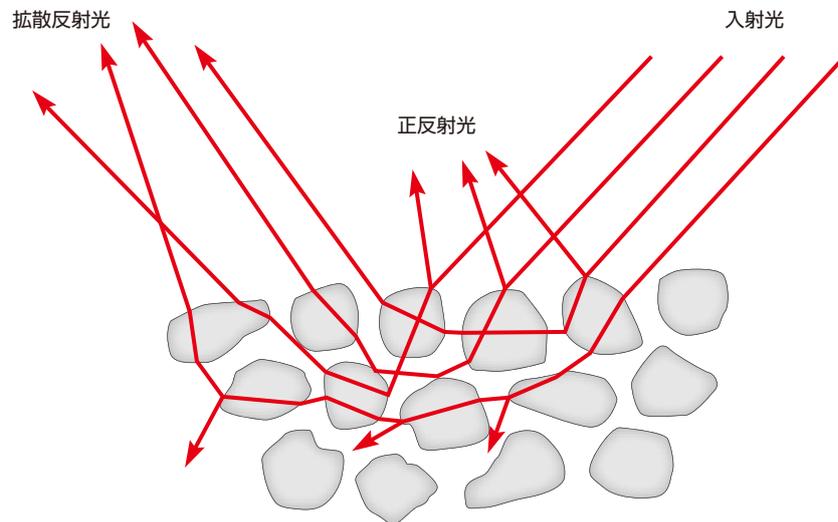


図2 単色光が粉末試料を反射する様子(模式図)

粉末試料の測定では、正反射光と拡散反射光が混じった反射光として検出されますが、試料の粒径が十分に小さければ、正反射光の影響は大きくありません。拡散反射光は試料の内部を繰り返し通過して表面に出てくる光ですので、透過測定に似た吸収スペクトルになります。しかし、光の移動する方向、距離などが透過測定とは異なることから、透過測定のようにランバート・ベアーの法則を適用

することはできません。拡散反射での光の吸収は、光を散乱、吸収する粒子が詰まった、ある厚さの層に、一定の方向から光を入射するというモデルをもとにKubelkaとMunkによって解析が行われています¹⁾。解析の詳細は文献を参照していただくとして、この解析では、最終的に拡散反射率と吸収係数の関係は式(2.1)で表されます。

$$f(R_{\infty}) = \frac{(1-R_{\infty})^2}{2R_{\infty}} = \frac{K}{S} \quad \dots\dots \text{式(2.1)}$$

$f(R_{\infty})$ は、クベルカ-ムンク(Kubelka-Munk)関数と呼ばれます。ここで R_{∞} は試料の絶対反射率、 K は吸収係数、 S は散乱係数です。散乱係数は、粒子の径、粒子の密度に依存して変化します。

実際の測定においては、絶対反射率を求めることは困難であるため、測定領域で吸収係数 K が0に近い値(R_{∞} が1に近い値)をもつ硫酸バリウムなどを標準粉末として、式(2.2)の相対反射率を測定します。

$$r_{\infty} = \frac{R_{\infty}(\text{試料})}{R_{\infty}(\text{標準粉末})} \quad \dots\dots \text{式(2.2)}$$

この相対反射率(r_{∞})をもとに以下の式(2.3)の値を求めます

$$f(r_{\infty}) = \frac{(1-r_{\infty})^2}{2r_{\infty}} = \frac{K}{S} \quad \dots\dots \text{式(2.3)}$$

これらの式の実効性は、Kortumらによって実験的に確かめられています²⁾。ディディミウムガラスフィルターの拡散反射スペクトルと透過スペクトルが比較され、散乱の影響を受けやすい短波長側を除いては、スペクトルがよく一致していることが示されています。

このように散乱係数という透過測定にはない係数はありますが、拡散反射率をクベルカ・ムンク変換することで吸収係数や濃度に比例する値を得ることができます。

このクベルカ・ムンク変換に必要な粉末試料の相対拡散反射率(r_{∞})の測定には、積分球付属装置がよく用いられます。積分球付属装置の一例を図3に示します。



図3 積分球付属装置 (ISR-2600Plus)

積分球の側面にある反射測定用の窓に測定試料を設置して拡散反射測定を行います。試料が圧着できる場合には試料皿に圧着して、圧着できない場合には粉末試料ホルダに入れて測定を行います。濃度の調整は、必要に応じて行ってください。測定の際の手順を図4に示します。

まず硫酸バリウムの標準白板を用いてベースライン補正を行います。その後、標準白板と測定試料を入れ替えて測定を行います。この手順で相対拡散反射率(r_{∞})が得られます。

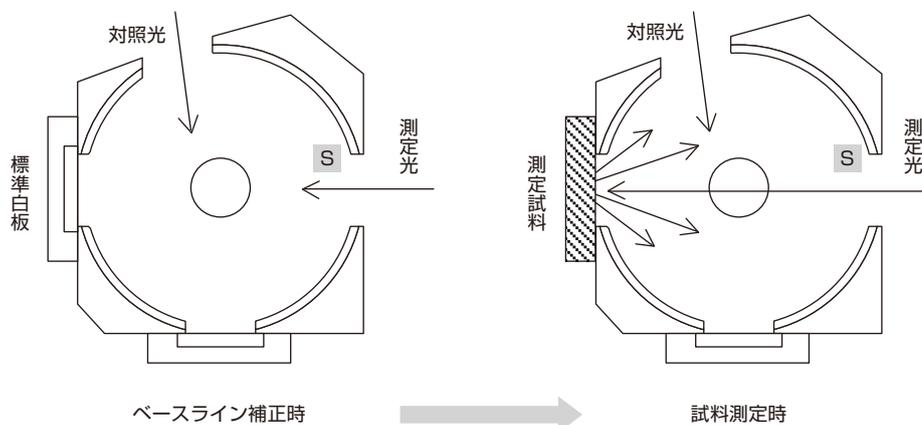


図4 拡散反射測定 測定手順

3. 透過測定と拡散反射測定の比較

実際に積分球を用いて、カフェイン粉末の拡散反射スペクトル測定を行いました。比較のためカフェイン水溶液の透過スペクトルも測定しました。クベルカ・ムンク変換した拡散反射スペクトルと吸光度変換した透過スペクトルを図5に示します。比較しやすいようにスペクトルはピーク最大値が1になるよう正規化しました。ピークの位置などおおよそ一致していることがわかります。若干スペクトルに差が見られますが、透過試料が水溶液であるための励起状態の差もしくは波長の短い紫外領域であるため散乱の影響を受けているためと推測されます。このようにクベルカ・ムンク変換でも吸光度と同様に吸収スペクトルを得ることができます。

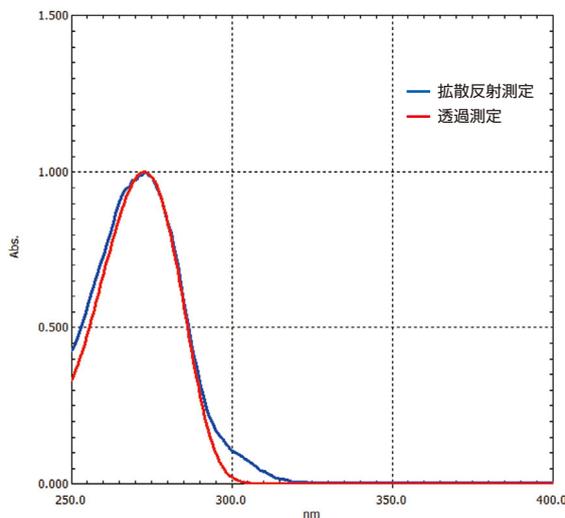


図5 拡散反射スペクトル(クベルカ・ムンク変換)と透過スペクトル(吸光度)の比較

4. 透過測定と拡散反射測定の違い

透過測定においてはランバート・ベアーの法則により、吸光度が試料濃度と比例する値を示します。一方拡散反射測定においてはクベルカ・ムンク変換することで試料濃度と比例する値が得られます。透過測定、拡散反射測定それぞれの光の光路、散乱の影響などが異なるため光の吸収量と濃度との関係は、同じではありません。

透過測定と拡散反射測定それぞれの光吸収の量と試料の濃度との関係を図6に示します。

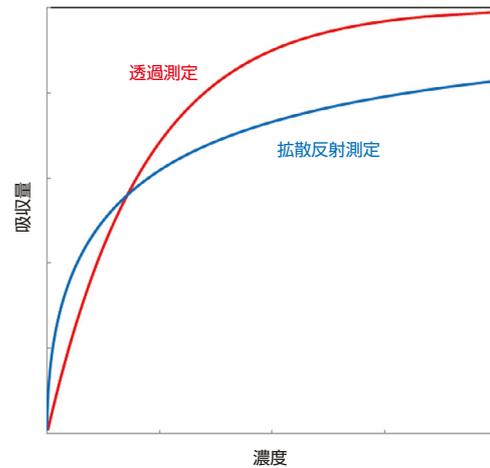


図6 光の吸収量と試料の濃度の関係

図6に示されているように、濃度が薄い場合には透過測定より拡散反射測定の吸収量が大きい値を示します。このことは拡散反射測定では小さな吸収ピークが透過測定より大きく見えることを示しています。試料の内部で吸収される光の吸収を見ているが、透過測定と拡散反射測定にはこのような差が見られます。

5. まとめ

拡散反射測定法では、クベルカ・ムンク変換することで濃度や吸光係数に比例する値を得ることができます。このことを利用して溶液にできない試料の定量などへの応用が考えられます。しかしクベルカ・ムンク変換によって得られる値は、散乱係数という別の係数が関与し、粒子の径、

また溶液の場合、試料と溶媒との相互作用などにより粉末の状態とは異なるスペクトルが得られることがあります。たとえばフェノール・フタレイン溶液は、pHによって溶液の吸収ピークが変わるため粉末試料の測定結果とは大きく異なるスペクトルとなります。

粒子の密度によって値が変わります。正確な定量を行うには散乱係数が一定であることが必要です。これらの点に留意していただきご活用ください。

参考文献

- 1) P.Kubelka, F.Munk, *Z.Tech.Phys.*, 12, 593(1931)
- 2) G.Kortüm, W.Braun, G.Herzog, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, 2, 333(1963)

食品のカラー測定

食品には様々な色がついています。それは食欲を増進させたり、減退させたりする原因にもなり、食べ物を外観で判断する際の重要な要素の一つとなっています。色は感覚的な面を持ちますが、分光光度計を用いることで数値として表すことが可能です。今回、様々な砂糖の色を測定してみました。粉末試料における測定上のノウハウとともに、それらのカラー値の求め方を説明致します。

1. 砂糖の測定

様々な種類の砂糖6種を試料として用意しました。用意した6種の砂糖に対しA～Fのアルファベット表記で区別したものをTable 1に示します。測定した砂糖の写真を図1に表示します。写真から、A以外の砂糖は黄色味を帯びていることがわかります。測定に用いた粉末試料ホルダを図2に示します。写真の左は試料を入れるための窓板付きセル、

右は積分球付属装置(以下積分球とします)に窓板付きセルを設置するためのホルダです。試料Bを詰めた窓板付きセルの写真を図3に示します。砂糖のような固まりにくい粉末試料を通常の積分球用試料皿に詰めた場合、試料がこぼれ落ちることがありますが、窓板付きセルを使用すると試料の脱落を防止することができます。

Table 1 測定した6種の砂糖

試料	砂糖の名称
A	上白糖
B	砂糖
C	砂糖
D	三温糖
E	加工黒糖
F	加工黒糖



図1 砂糖(A～F)

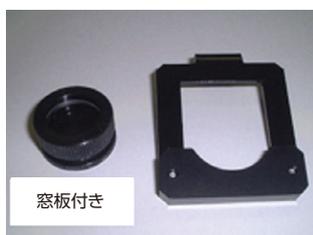


図2 粉末試料ホルダ



図3 試料Bを詰めた窓板付きセル

2. 測定結果

図4のように試料を積分球に設置し、全光線反射率を可視域の380 nm～780 nmの範囲で測定しました。同一の試料に対し、試料をセルに入れ替えて2回ずつ測定しました。なお、反射基準として硫酸バリウムを詰めた窓板付きセルを使用し、ベースライン補正を行いました。

測定結果を図5に、測定条件をTable 2に示します。試料Aは、測定範囲でほとんど反射率に変化がなく、無彩色であることを示しています。A以外の試料は、500 nm以下の青色領域の反射率が相対的に低く、500 nm以上の緑色領域と赤色領域の反射率が高くなっており、それらの混色である黄色系統の色であることを示しています。



図4 試料を積分球に設置した状況

Table 2 測定条件

使用装置	紫外可視近赤外分光光度計UV-3600、大形試料室MPC-3100(積分球内蔵)
測定波長範囲	380 nm ~ 780 nm
スキャンスピード	中速
サンプリングピッチ	2.0 nm
測光値	反射率
スリット幅	8 nm

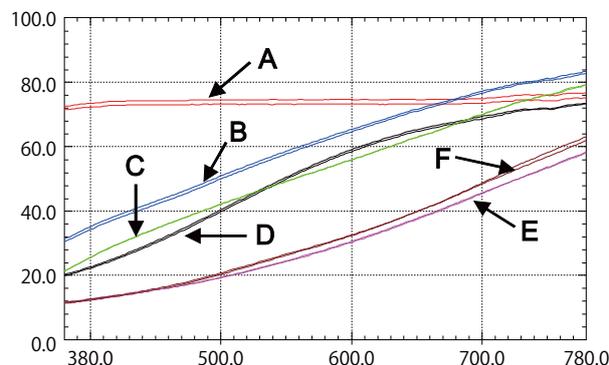


図5 試料の全光線反射スペクトル
(赤:A、青:B、緑:C、黒:D、紫:E、茶色:F)

3. カラー計算

図5の測定結果に対し、オプションのカラー測定ソフトウェアを用いてL*a*b*表色系のカラー値を計算しました。その結果をTable 3に示します。D65照明、10度視野で計算しました。Table 3の値をL*a*b*色度図に表現したものを図6に、図6の右側のa*b*グラフ(横軸：a*値、縦軸：b*値)のプロット点付近を拡大したものを図7に示します。

L*a*b*色度図において、L*値は左側の柱状グラフに、a*,b*値は右側のグラフにプロットされます。L*グラフは試料の明度を表し、明度の高い色ほど明るく、低い色ほど暗い色となります。L*グラフで高い位置にある試料ほど明るい色を持っています。図6及びTable 3より相対的にAが明るく、EやFが暗いことがわかります。右側のa*b*円グラフは、

動径方向が色相を、中心からの距離が彩度を表します。色相は色味を、彩度は色の鮮やかさを意味します。動径方向の色相では、円に向かって右方向が赤系統、上方向が黄系統、左方向が緑系統、下方向が青系統の色を表しています。図6と図7から、A以外の試料はやや赤みがかった黄色であることがわかります。また彩度では、円の中心にある試料ほどくすんだ色で、円の外側にあるものほど鮮やかな色であることを示しています。

このように色を2次元的な色度図に表示することで試料間の色の相対的な違いを把握することが可能となります。

Table 3 L*a*b*値(D65照明、10度視野)

データ名	L*	a*	b*
A-1	89.15	-0.06	0.22
A-2	88.48	-0.04	0.14
B-1	80.93	3.62	15.72
B-2	80.46	3.76	16.07
C-1	75.55	4.06	17.23
C-2	75.56	4.09	17.20
D-1	75.75	5.01	23.28
D-2	76.12	4.93	23.11
E-1	57.12	7.59	18.03
E-2	56.92	7.58	17.67
F-1	58.84	6.86	19.85
F-2	58.54	7.16	20.17

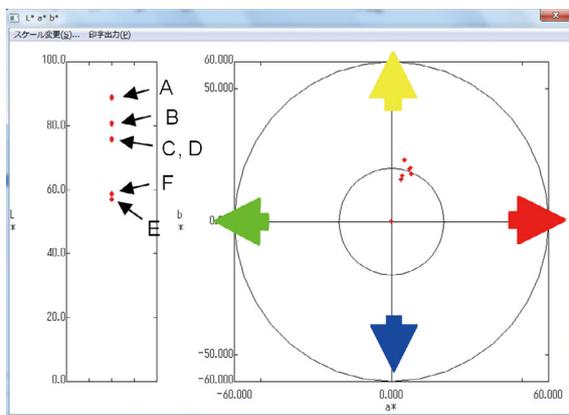


図6 L*a*b*色度図

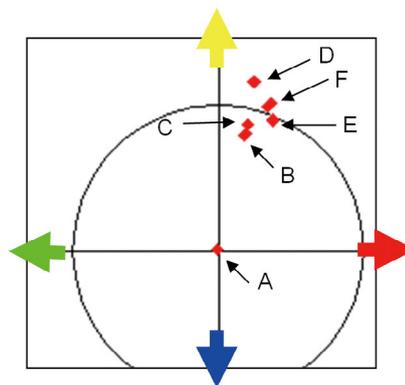


図7 図6のa*b*図の拡大図

4. まとめ

今回、積分球、粉末試料ホルダとカラー測定ソフトウェアを用いることで、砂糖の色を測定することができました。粉末試料など表面がざらついた試料を測定する場合は、積分球が有用な付属装置となります。積分球の詳細に関しては、UV Talk Letter Vol.5を参照ください。

カラー測定は、食品のみならず、化学、農業など様々な分野で用いられています。固体試料の反射測定やカラー測定に対し、本内容を参考にさせていただければ幸いです。

分析計測事業部 グローバルアプリケーション開発センター
杉岡幹生

Q

紫外可視分光光度計で分析するときを設定する
分析条件の『スキャンスピード』は
データにどのような影響を及ぼすのでしょうか？

A

紫外可視分光光度計で設定する分析条件の一つに『スキャンスピード』があります。このスキャンスピードの選択肢には、『高速、中速、低速、超低速』があり、スキャンスピードの違いにより、各測定波長での測定データ取得回数(積算回数)が異なります。図1に島津紫外可視分光光度計UV-2600を用いて、各スキャンスピードで取得したベースラインを示します。図1からもわかるように、スキャンスピードが遅いほど、同じ測定波長での積算回数が増えるため、ノイズの少ないスペクトルが得られます。一般的な分析には『中速』をお勧めします。よりノイズの少ないスペクトルを取得したい場合は、測定に時間はかかりますが、低速または超低速のスキャンスピードを選択してください。

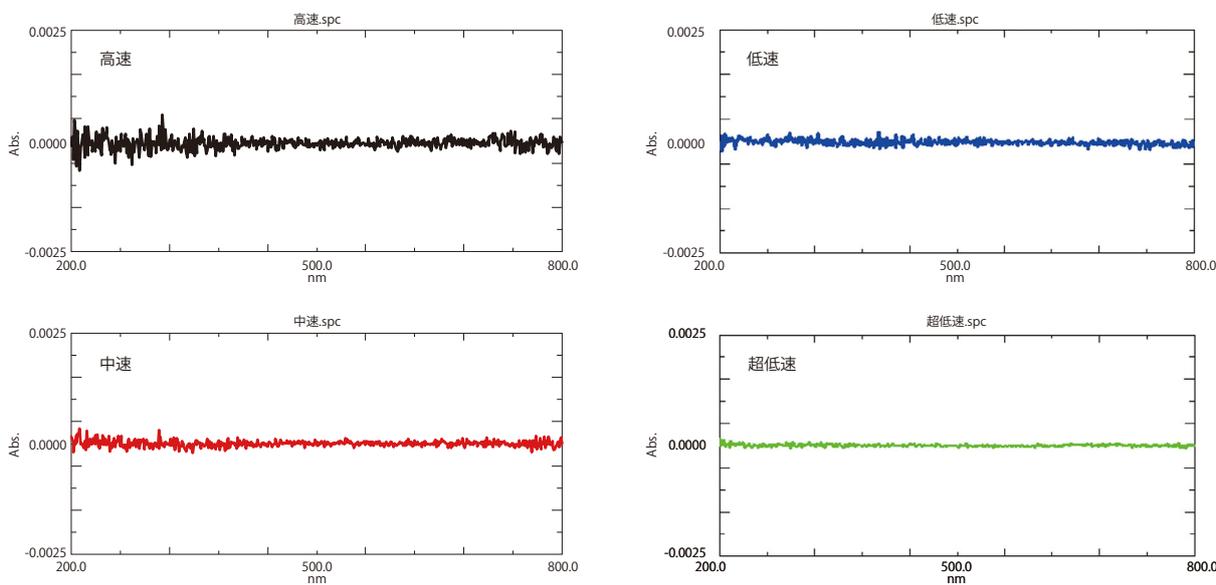


図1 UV-2600における各スキャンスピードでのベースライン