27　スペクトル解析による化学種数推定および定量分析

27.1　はじめに

分析したい系に含まれる化学種を同定し，その量を決めることは，分析化学の共通した目標概念である．化学種の検出方法として，分光学的な測定は特に基本的で重要な方法のひとつである．分光測定には，紫外可視（UV-Vis）・赤外（IR）分光法に代表される吸収分光法や，ラマン分光法のような散乱分光法，蛍光分光法のような発光分光法などがあり，いずれも測定結果としてスペクトルを与える．

スペクトルには，選択律に従って現れる化学種ごとのスペクトルが重ね合わさっているため，スペクトルを一見しただけでは，定性的にも定量的にもわかりにくいことが多い．しかし，少し工夫を加えると，化学種ごとの量的な情報を独立に得ることができる場合があり，分離分析に匹敵するきわめて利用価値の高い情報が得られる [1].

本実験では，指示薬の pH 変化による構造変化をスペクトル変化として測定し，そこから 1) 独立な化学種が何種類あるか，2) 独立な化学種のそれぞれのスペクトル（純成分スペクトル）はどのようなものか，3) 各化学種の混合比率は pH に対してどのように変化するか，といった情報を得ることを目標とする．

27.2　Beer-Lambert の式

分析する系に化学種が一種類だけ溶けている溶液を考えよう．ここでいう一種類とは，分光学的に見て一種類，すなわちスペクトルを与える化学種が一種類のみという意味である．このとき，吸収スペクトルに関しては有名な Beer-Lambert の関係（(1) 式）が成り立つ．

$$A = \epsilon C \tag{1}$$

これは吸光度[1]（A）が濃度（C）に比例する単純な関係を示したもので，これを見る限り，モル吸光係数（ϵ）は単純に比例定数とみなすことができる．

散乱スペクトルや発光スペクトルでも，検出される光強度と濃度には比例関係があるので，基本的には同じ式でスペクトル強度（バンド高さ）と濃度の関係を表現することができる．しかし，Beer-Lambert の式は

1. 単一波長について成り立つ
2. 単一化学成分の系について成り立つ

[1] 透過率は濃度に比例しない

もっとも簡単な濃度検量はこの制約下で行うが，これでは一般の化学系を扱うにはいかにも不自由である．

27.3 スペクトルの多次元ベクトル表記

吸収スペクトルを例に，実測スペクトル k の中身を表現すると，(2) 式のようになる．

$$\mathsf{k} = (k_1, k_2, k_3, ..., k_M) \tag{2}$$

ここで，$k_1, k_2, k_3, ..., k_N$ は吸光度（ベースラインからの高さ）を M 個の波長順に並べたものである．このように，スペクトルは‘ベクトル’k として表現できる．これを別の見方をすると，スペクトル k は M 次元空間内の一個の点とみなすことができる．

27.4 重ね合わせの原理

化学種が 2 種類以上に増えると，各化学種が与えるスペクトルが‘重ね合わさって’ひとつのスペクトルとなって現れる．これは，n 個の純成分スペクトルに対応するベクトル k_i $(i = 1, 2, ..., n)$ が，各試料の濃度 c_i を重み因子として線形結合することに相当する．混合の仕方を変えていくつも試料を作製したとき，試料番号 1 の混合物スペクトル A_1 は (3) 式で表現できる．

$$\mathsf{A}_1 = \sum_{i=1}^{n} c_i \mathsf{k}_i = \mathsf{CK} \tag{3}$$

ただし，

$$\mathsf{C} = (c_1, c_2, c_3, ..., c_n) = (c_i) \tag{4}$$

$$\mathsf{K} = \begin{bmatrix} \mathsf{k}_1 \\ \mathsf{k}_2 \\ \vdots \\ \mathsf{k}_n \end{bmatrix} = (k_{ij}) \tag{5}$$

である．

27.5 複数のスペクトルを同時に取り扱う

前節では，測定スペクトルが A_1 $(1 \times M)$ ひとつしかなかったが，N 個の測定スペクトルを同時に扱うには，A_i を列に束ねてひとつの行列 A $(N \times M)$ にすれば良い．このとき，各スペクトルに対応して濃度混合比を記述した C も N 個存在するので，C にもうひとつインデックスを追加しなくてはならない．

すなわち，各要素は c_i から c_{ij} という行列要素に変化する．K はすでに k_{ij} という行列要素をもっている．そこで，複数のスペクトルを扱う基礎式は (6) 式となる．

$$\mathsf{A} = \mathsf{CK} \tag{6}$$

実測スペクトルには，測定誤差・ノイズ・予想外の化学種の存在などにより (6) 式どおりにはならない．CK で表現できないすべての要素を R に入れて (7) 式で表現すれば，実測が適切に表現できる．

$$\mathsf{A} = \mathsf{CK} + \mathsf{R} \tag{7}$$

これを classical least squares (CLS) 回帰式という．

27.6 多次元空間の次元解析

CLS 回帰式は，n 個の純成分スペクトルを束ねた K 行列 $(n \times M)$ と，成分比を示す C 行列 $(N \times n)$ という化学・物理的に意味の明確な行列からできている．一方，予想外の化学種のスペクトルなどは R 行列に埋もれていて情報が引き出しにくい．

ところで，CLS 回帰式を (8) 式のように位数 1 のベクトルの積に展開できる．

$$\mathsf{A} = \sum_{m=1}^{N} c_{mj} k_{im} + \mathsf{R} = \sum_{m=1}^{N} \mathsf{c}_m \mathsf{k}_m + \mathsf{R} \tag{8}$$

$(N \times M)$ の次元を持つベクトル空間をもっと効率よく展開するには，k_m の代わりに直交ベクトル p_m を使って展開したほうが良い．つまり，p_m は (9) 式を満たす．(^{T} はベクトルの転置を示す.)

$$\mathsf{p}_i \, \mathsf{p}_j^{\mathrm{T}} = \delta_{ij} \tag{9}$$

もし，この直交ベクトル p_m の組をうまく探し出せれば，化学種の数を知らなくても，(10) 式のような一般化した展開が可能になる．

$$\mathsf{A} = \sum_{m=1}^{N} \mathsf{t}_m \mathsf{p}_m = \mathsf{TP} \tag{10}$$

これを主成分分析（principal-component analysis; PCA）という．PCA では予想外の化学種由来のスペクトルも含めたスペクトル情報を展開できるため，化学情報をスペクトルから搾り出すのに強力である．PCA で展開に用いる直交ベクトル p_i は，A で与えられたベクトル空間を張る直交軸で，(11) 式で示される固有値（λ_i）－固有ベクトル（p_i）方程式を解く[2]ことで得られる．

$$\mathsf{A}^{\mathrm{T}} \mathsf{A} \, \mathsf{p}_i = \lambda_i \, \mathsf{p}_i \tag{11}$$

[2]コンピュータで簡単に計算できる

27.7　実験内容

エリオクロムブラック T（EBT; 図 1）は pH によって変色する指示薬である．

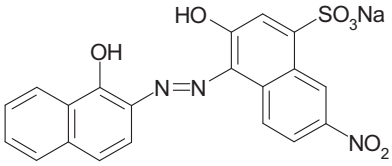

図 1: EBT の化学構造

EBT は二つの水酸基とスルホン酸基を持ち，水溶液中で pH が高いときすべてがイオン化して 3 価のアニオン（I^{3-}）になる．一方，酸性度が高いときは，水酸基が中性になり，全体で 1 価のアニオンになる．全体の化学平衡は (12) 式に示すようになっている．

$$H_2I^- \longleftrightarrow HI^{2-} \longleftrightarrow I^{3-} \tag{12}$$

二つの平衡の pK_a はそれぞれ 6.3 および 11.5 であることが知られている．

この実験では，水溶液中に混在する EBT の化学種が 3 つあることを分光学的に確められるかどうか，PCA の解析を通じて試してみよう．また，それぞれの化学種が，pH の変化に応じてどのような量的変化を見せるか，併せて解析してみよう．

弱く発色する程度の希薄な EBT 水溶液を 100 mL 調整する．調整した溶液から 10 mL を取り，pH を 2 から 12 程度の範囲で適当に 8ヶ所程度選定し，HCl, NaOH, KH_2CO_3, K_2HCO_3 などを使って調整し，pH を測定する．純水をバックグランドスペクトルとして，pH 調整した EBT 水溶液の UV-Vis スペクトル（300 – 800 nm）を測定する．これを，すべての pH 調整した試料について行う．測定した 8 つ（程度）のスペクトルを csv ファイルで出力し，Octave で PCA 解析などを行い，化学情報を解析する．

27.8　課題

PCA 解析によって，主成分数が想定された 3 つを超える結果となった場合，その理由を考察せよ．

参考文献

[1] 長谷川健, スペクトル定量分析 , 講談社サイエンティフィク (2005).