慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	2物質の混合溶液によって生ずる等吸収点と示差スペクトルを利用する分析 : クロルフェノール混合物の定量
Sub Title	Spectrophotometry by isosbestic point of a mixture of two sorts of substances and difference spectrum : determination of mixtures of chlorophenols
Author	鹿島, 哲(Kashima, Tetsu) 吉田, 睦子(Yoshida, Mutsuko)
Publisher	共立薬科大学
Publication year	1968
Jtitle	共立薬科大学研究年報 (The annual report of the Kyoritsu College of Pharmacy). No.13 (1968.) ,p.1- 9
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	
Genre	Technical Report
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00062898-00000013-0001

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

1 9 6 8　　共立薬科大学研究年報　　No. 13

2物質の混合溶液によって生ずる等吸収点と示差スペクトルを利用する分析*

——クロルフェノール混合物の定量——

鹿島　哲，吉田睦子

Spectrophotometry by Isosbestic Point of a Mixture of Two Sorts of Substances and Difference Spectrum

Determination of Mixtures of Chlorophenols

Tetsu KASHIMA and Mutsuko YOSHIDA

Nearly all the absorption spectra have isosbestic points (λ_{iso}), when total concentration of two substances in a solution is constant and only the ratios of concentration change. Difference absorption maximum (λ_d) of two solution is easily obtained by the difference spectrum, which is automatically obtained by subtraction of the absorbance of a solution of a substance from that of the other substance of same molar concentration, using a recording spectrophotometer. And we have found the equations that a mixture of two substances is easily analyzed by measuring the absorbances of the isosbestic point (E_{iso}) and the difference absorption maximum (E_d), if the molar absorptivities of the isosbestic point (ε_{iso}) and the difference absorption maxima (ε (A′) d ε(B′)) of the two substances are known.

Mixtures of two sorts of dichlorophenols and trichlorophenols are analyzed by this method and good results are generally obtained.

まえがき

クロルフェノール類の分光分析[1)2)] について実験を重ねて来たところ，新しい見方の等吸収点を利用すれば，分析しにくい類似構造の2物質の混合物の分析が簡単にできることに気付き，それを実際に当てはめることができるかどうか確かめる実験を行なったので報告する．

ふつう等吸収点 (isosbestic point) というのは，分光分析において一つの物質の一定濃度の溶液が一つの変動因子によって変化するスペクトル曲線群のうちで，その全曲線群が一点に交わるその点のことである．したがって，等吸収点ではその変動因子によっては変化しないモル吸光係数 (molar absorptivity) を有するため，物質の定量に広く利用されている．特に試料溶液の pH に関係なく定量する目的に，この等吸収点がよく用いられている[3)]．

それに対して新しい見方の等吸収点を考えた．それは2種の物質が溶液中で相互に影響を及ぼ

* この報文の一部は日本化学会第17年会 (1964. 4. 1) で発表した．

1) 鹿島　哲，近藤竜雄： 食衛誌., **5**, 135 (1964).
2) 鹿島　哲，近藤竜雄： 衛生試報., **82**, 42 (1964).
3) 武者宗一郎： 新分析化学講座, **3**, 70～77 (1960).

さないとき，その合計濃度が一定でその混合比のみが変化するときは，一定条件でそれらの吸収スペクトル曲線群は特定の波長で吸光度の等しい点（等吸収点）に集まる場合が多い．その波長で，濃度未知の既知2物質の混合試料の吸光度を測定すれば，その合計濃度を求めることができるわけである．

また，分光光度計の参照側にその混合試料の一方の成分のみを含む溶液を，試料側に前者と同じ濃度でいま一方の成分のみを含む溶液を置いて測定すると，2成分の示差スペクトル（difference spectrum）が得られる．その示差スペクトルの吸光度を側定すれば，合計濃度がわかっているので，2成分の混合比を求めることができる．以上2種の測定により，ベールの法則が成立する範囲内で2種の混合試料の各成分の濃度がわかる，つまり定量することができるわけである．

その方法を実際に適用できるかどうかを確かめるために，数種のジクロルフェノールおよびトリクロルフェノールの2種の混合試料を用いて実験を行なった．

実験材料および装置

2,4-ジクロルフェノール　一級試薬をベンゼンより2回再結晶，白色針状晶，mp 44.5°.

2,5-ジクロルフェノール　特級試薬を石油エーテルより2回再結晶，白色柱状晶，mp 57°.

2,6-ジクロルフェノール　一級試薬を石油エーテルより2回再結晶，白色針状晶，mp 65°.

2,4,5-トリクロルフェノール　一級試薬を石油エーテルより2回再結晶，白色針状晶，mp 67°.

2,4,6-トリクロルフェノール　一級試薬をリグロインより2回再結晶，白色針状晶，mp 68°.

塩　酸　特級試薬を蒸留した定沸点塩酸.

水酸化ナトリウム　特級試薬を常法により二酸化炭素を除いたもの.

ホウ砂　E. Merck，pH 緩衝液用.

リン酸2水素カリウム　E. Merck，pH 緩衝液用.

pH 緩衝液　0.1M 塩酸（pH 1.1），0.1M 水酸化ナトリウム（pH 約13），0.02M ホウ砂緩衝液（pH 4.7）および 0.02M リン酸2水素カリウムを単独または混合し，その溶液の pH は pH メーターで測定した.

自記分光光度計，日立製 EPS-2 型.

分光光度計，島津製 QR-50 型.

pH メーター，東亜電波製 HM-5A型.

実験方法および結果

測定原理　前以て同じモル濃度のAおよびBなる物質の試料溶液をつくり，それらを種々の割合で混ぜた溶液の吸収スペクトル曲線群を一定の条件で測定すれば，一般にそれら曲線群の等吸収点の波長（λ_{iso}）とその波長におけるモル吸光係数（ε_{iso}）を求めることができる．

また，同じ濃度のAおよびB物質の試料溶液を自記分光光度計の参照側と試料側に入れて前と同じ条件で示差スペクトルを測定した．また，別にその吸収極大の波長（λ_{dif}）におけるAおよびBのモル吸光係数 $\varepsilon(A')$ および $\varepsilon(B')$ を分光光度計でそれぞれ測定しておく．

以上のデータを求めておくと，濃度未知のAおよびBの混合試料の分析はつぎのようにして求めることができる．その試料溶液に含まれているAおよびBそれぞれのモル濃度をxおよびyとする．そうすると当然AとBとの混合比は x/y である．それらの等吸収点の波長（λ_{iso}）および示差スペクトルの極大の波長（λ_{dif}）における混合試料溶液の液層 1cm の吸光度を測定したと

き，それぞれ E_i および E_d であったとすると

$$\varepsilon_{iso}\times(x+y)=E_i \quad \cdots\cdots(1)$$

この式から混合試料溶液の合計濃度 (x+y) が求められる．また，つぎの式が示差吸収極大の波長で成立つ．

$$\varepsilon(A')\times\frac{x}{x+y}+\varepsilon(B')\times\frac{y}{x+y}=\frac{E_d}{x+y} \quad \cdots\cdots(2)$$

$$\varepsilon(A')\times x(x+y)+\varepsilon(B')\times y(x+y)=E_d(x+y)$$

$$\therefore\quad \frac{x}{y}=\frac{E_d-\varepsilon(B')\times(x+y)}{\varepsilon(A')\times(x+y)-E_d} \quad \cdots\cdots(3)$$

E_d は試料液の示差吸収極大の波長における吸光度で，(1)式から (x+y) が求められているので，(3)式から混合比 x/y が計算できる，したがって，x および y という濃度が容易に求められる．

実験操作 各クロルフェノール0.1ミリモルを正確にはかりとり 10ml のエタノールに溶かしてから水で正確に 100ml とし 10^{-3}M 溶液をつくり，必要に応じ水または緩衝液で希釈し，水

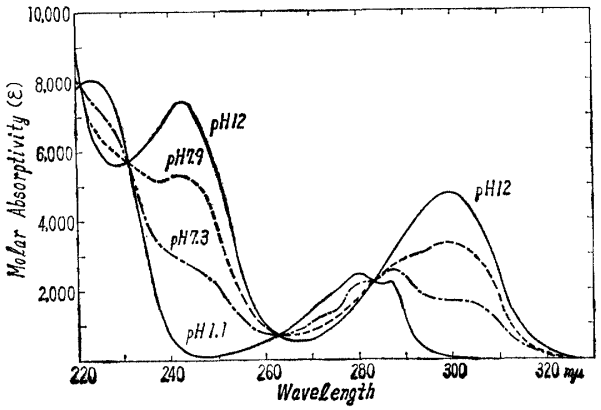

Fig. 1 Effect of pH upon Absorption Spectrum of 2,5-Dichlorophenol (Solvent : 0.5% Ethanol)

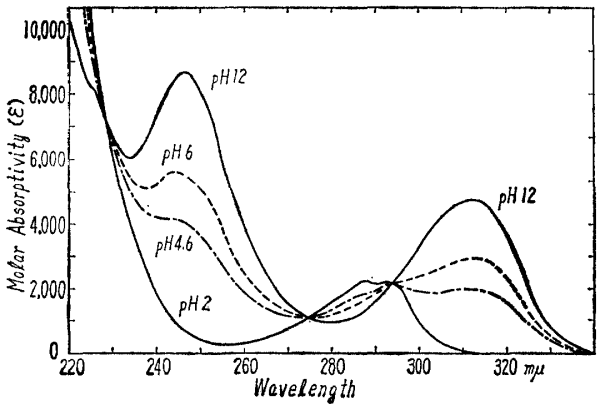

Fig. 2 Effect of pH upon Absorption Spectrum of 2,4,6-Trichlorophenol (Solvent : 0.5% Ethanol)

を参照液として室温 15～20°C で分光分析した.

(1) pH による吸収スペクトルの変化

各クロルフェノールの pH の異なる 10^{-4}M をつくり，その吸収スペクトルを測定した．その例が Fig. 1 および 2 である．各クロルフェノールは溶液の pH が 3 以下のときは分子形をとって存在し，pH が 11 以上のときはイオン形として存在する．なお，溶媒中のエタノール含量

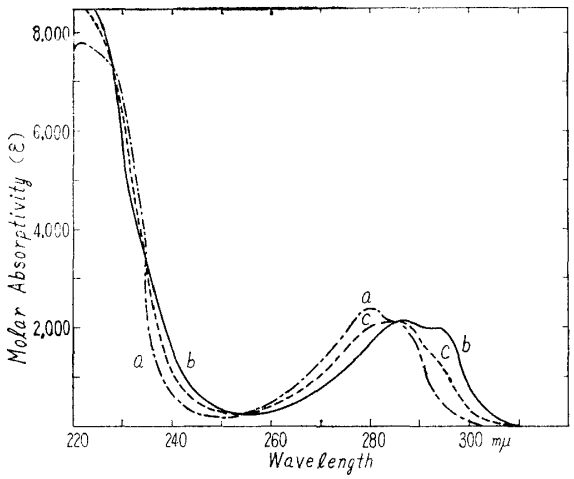

Fig. 3 Absorption Spectra of 2,5-Dichlorophenol (a), 2,4,6-Trichlorophenol (b) and Their Mixture (1/1) (c) [Molecular Form] (New Isosbestic Points)

Table 1 Wavelength and Molar Absorptivity at the Isosbestic Point of the Mixture of Chlorophenols [Molecular Form]

Sample	$\lambda_{iso\,1}$ ε_1	$\lambda_{iso\,2}$ ε_2	$\lambda_{iso\,3}$ ε_3	$\lambda_{iso\,4}$ ε_4
2,4-Dichlorophenol +2,5-Dichlorophenol	—	233mμ 5,000	248mμ 200	284mμ 2,100*
2,4-Dichlorophenol +2,4,5-Trichlorophenl	—	—	255mμ 300	281.5mμ 1,860*
2,4-Dichlorophenol +2,4,6-Trichlorophenol	230mμ 6,000	237mμ 2,800	255mμ 300	285mμ 2,025*
2,5-Dichlorophenol +2,4,5-Trichlorophenol	—	—	255mμ 350	284mμ 2,100*
2,5-Dichlorophenol +2,4,6-Trichlophenol	228mμ 7,100	235mμ 3,500	255mμ 200	285mμ 2,050*
2,6-Dichlorophenol +2,4,5-Trichlorophenol	—	—	255mμ 350	284mμ 1,800*
2,6-Dichlorophenol +2,4,6-Trichlorophenol	—	—	255mμ 350	284mμ 1,800*

は0.5%とした.

(2) 2種のクロルフェノール混合溶液の吸収スペクトルとそれらの示差スペクトル

10^{-3}M 濃度の2種のクロルフェノール溶液を 0/10, 1/9, 5/5, 9/1 および 10/0 の割合で混合し、それぞれの溶液中の合計濃度が 10^{-4}M になるように0.1M塩酸または0.1M水酸化ナトリウムと水とで10倍に希釈し，自記分光光度計で測定した．この測定により混合比のみが変化することによって生ずる等吸収点の波長 (λ_{iso}) と，その波長におけるモル吸光係数 (ε_{iso}) を求めた．この場合塩酸酸性溶液の場合は，クロルフェノールは分子形，水酸化ナトリウム塩基性のと

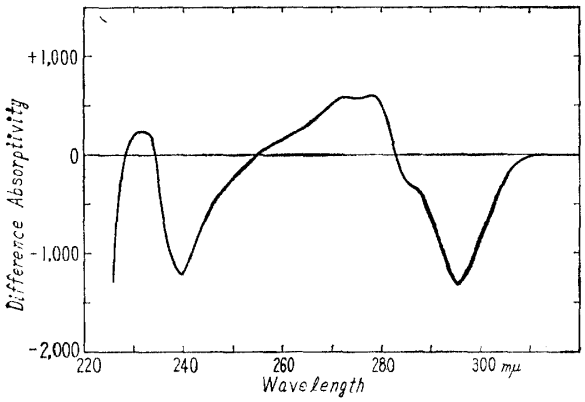

Fig. 4 Difference Spectrum of 2,5-Dichlorophenol and 2,4,6-Trichlorophenol [Molecular Form]

Table 2 Wavelength and Difference Absorptivity at the Absorption Maximum of the Difference Absorption Spectrum of the Two Sorts of Chloropenols (Molecular Form)

Sample/Reference	$\lambda_{max\,1}$ ε'_1	$\lambda_{max\,2}$ ε'_2	$\lambda_{max\,3}$ ε'_3	$\lambda_{max\,4}$ ε'_4
2,4-Dichlorophenol/ 2,5-Dichlorophenol	225mμ −1,100	238mμ 800	279mμ − 625*	294mμ 1,200
2,4-Dichlorophenol/ 2,4,5-Trichlorophenol	—	238mμ −2,600	290mμ − 875*	298mμ −1,950
2,4-Dichlorophenol/ 2,4,6-Trichlorophenol	—	233mμ 800	294mμ −610*	297mμ −1,100
2,5-Dichlorophenol/ 2,4,5-Trichlorophenol	—	238mμ −2,700	290mμ −1,050*	298mμ 2,450
2,5-Dihlorophenol/ 2,4,6-Trichlorophenol	—	239mμ −1,200	280mμ 805*	295mμ −1,800
2,6-Dichlorophenol/ 2,4,5-Trichlorophenol	—	233mμ −5,100	275mμ 995*	295mμ −2,500
2,6-Dichlorophenol/ 2,4,6-Trichlorophenol	—	230mμ −4,000	275mμ 925*	294mμ −2,100

きはイオン形として存在する．その吸収スペクトルの1例を Fig. 3 で示し，それらのまとめた結果が Table 1 である．

分光光度計の試料側と参照側にそれぞれ種類のちがう 10^{-3}M のクロルフェノールの強酸性または強塩基性溶液を置いて示差スペクトルを測定し，吸光度の差の最も大きい，吸収極大の波長（λ_{max}）とその波長における示差モル吸光係数（ε'）を求めた．その示差吸収スペクトルの1例を Fig. 4 で，まとめた結果が Table 2 である．

（3） 2種のクロルフェノール混合試料の分析

濃度未知の2種のクロルフェノール混合溶液を分析する場合，その2種のクロルフェノールの混合比だけを変えたときに生ずる等吸収点の波長における吸光度（E_i）を測定して合計濃度を求め，ついで示差吸収極大の波長における吸光度（E_d）を測定して2種のクロルフェノールの混合比を求めた．この2種の測定から各クロルフェノールの濃度を求めた．その例 7 種を Table 3 にまとめた．測定にはTable 1 および2の＊印の吸収バンドを用いた．

なお，クロフェノール類の濃度は約 10^{-3}M までベールの法則が成立した．

Table 3 Determination of Chlorophenols in the Mixture
(Total Concentration : 2×10^{-4}M)

a) 2,4-Dichlorophenol+2,5Dichlorophenol

Sample	Total Concentration		Mixture Ratio	
2,4-D/2,5-D	E (284mμ)	Found	E (279mμ)	Found
0/10	0.419	99.8%	0.470	—
1/ 9	0.420	100.0	0.455	1.2/8.8
3/ 7	0.419	99.8	0.435	2.8/7.2
5/ 5	0.421	100.2	0.408	5.0/5.0
7/ 3	0.421	100.2	0.385	6.8/3.2
9/ 1	0.422	100.5	0.360	8.8/1.2
10/ 0	0.422	100.5	0.345	—

b) 2,4-Dichlorophenol+2,4,5-Trichlorophenol

Sample	Total Concentration		Mixture Ratio	
2,4-D/2,4,5-T	E (281.5mμ)	Found	E (290mμ)	Found
0/10	0.370	99.5%	0.535	—
1/ 9	0.370	99.5	0.515	1.15/8.85
3/ 7	0.375	100.8	0.485	2.9 / 7.1
5/ 5	0.374	100.5	0.445	5.15/4.85
7/ 3	0.371	99.7	0.410	7.15/2.85
9/ 1	0.373	100.3	0.375	9.1 / 0.9
10/ 0	0.374	100.5	0.360	—

c) 2,4-Dichlorophenol+2,4,6-Trichlorophenol

Sample	Total Concentration		Mixture Ratio	
2,4-D/2,4,6-T	E (285mμ)	Found	E (294mμ)	Found
0/10	0.405	100.0%	0.410	—
1/ 9	0.405	100.0	0.398	1.0/9.0
3/ 7	0.405	100.0	0.375	2.9/6.1
5/ 5	0.404	99.8	0.350	4.9/5.1
7/ 3	0.405	100.0	0.325	7.0/3.0
9/ 1	0.405	100.0	0.300	9.0/1.0
10/ 0	0.406	100.2	0.288	—

d) 2,5-Dichlorophenol+2,4,5-Trichlorophenol

Sample	Total Concentration		Mixture Ratio	
2,5-D/2,4,5-T	E (284mμ)	Found	E (290mμ)	Found
0/10	0.412	98.1%	0.505	—
1/ 9	0.413	98.4	0.480	1.15/8.85
3/ 7	0.414	98.6	0.440	3.0 / 7.0
5/ 5	0.418	99.5	0.400	4.9 / 5.1
7/ 3	0.419	99.8	0.353	7.05/2.95
9/ 1	0.420	100.0	0.310	9.1 /0.9
10/ 0	0.423	100.7	0.290	—

e) 2,5-Dichlorophenol+2,4,6-Trichlorophenol

Sample	Total Concentration		Mixture Ratio	
2,5-D/2,4,6-T	E (285mμ)	Found	E (280mμ)	Found
0/10	0.411	100.2%	0.302	—
1/ 9	0.410	100.0	0.317	0.95/9.05
3/ 7	0.410	100.0	0.351	3.05/6.95
5/ 5	0.410	100.0	0.384	5.05/4.95
7/ 3	0.413	100.7	0.414	7.0 /3.0
9/ 1	0.410	100.0	0.448	9.05/0.95
10/ 0	0.410	100.0	0.463	—

f) 2,6-Dichlorophenol+2,4,5-Trichlorophenol

Sample	Total Concentration		Mixture Ratio	
2,6-D/2,4,5-T	E (284mμ)	Found	E (275mμ)	Found
0/10	0.358	99.5%	0.183	—
1/ 9	0.358	99.5	0.202	0.95/9.05
3/ 9	0.360	100.0	0.244	3.05/6.95
5/ 5	0.359	99.7	0.282	4.95/5.05
7/ 3	0.359	99.7	0.323	7.0 / 3.0
9/ 1	0.361	100.3	0.363	9.0 / 1.0
10/ 0	0.362	100.5	0.382	—

g) 2,6-Dichlorophenol+2,4,6-Trichlorophenol

Sample	Total Concentration		Mixture Ratio	
2,6-D/2,4,6-T	E (284mμ)	Found	E (275mμ)	Found
0/10	0.358	99.5%	0.195	—
1/ 9	0.359	99.7	0.212	0.9 / 9.1
3/ 7	0.359	99.7	0.250	2.95/7.05
5/ 5	0.359	99.7	0.285	4.85/5.15
7/ 3	0.359	99.7	0.322	6.85/3.15
9/ 1	0.358	99.5	0.360	9.1 / 0.9
10/ 0	0.359	99.7	0.380	—

考　察　クロルフェノール溶液の pH を適当に調節して，溶液中のクロルフェノールを完全に分子形またはイオン形にした条件で，2種のクロルフェノール混合試料の分析をしている．分析上の必要条件として，混合溶液の合計濃度を一定にしておいて混合比のみを変化したとき等吸収点が存在することが挙げられる．しかし，この例のように類似構造の場合には，必ずといってもよいほどに等吸収点が存在する．また類似構造物質の混合試料は分析しにくいのだから，その分析にこの方法は偉力を発揮する．つぎに測定精度を上げるうえからいうと，等吸収点におけるモル吸光係数ができるだけ大きいことが望まれる．しかしそれが遠紫外にあって大きい場合は不純物の影響を受け易いので，今回の例ではベンゼンバンドにあるものを用いた．また，その等吸収点付近で波長が少し変化しても吸光度があまり変化しないことが望ましい．

また，混合比を測定する場合も同じような条件が望まれる．それらの条件のよい Table 3 (C) の場合では合計濃度で ±0.2%，混合比も 4 % 以内に納っているが，データはのせなかったが，2,5-ジクロルフェノール と 2,6-ジクロルフェノールとの混合試料ではモル吸光係数が低すぎて

測定精度が低下し，Table 3（a）の例では合計濃度で ±0.5%，混合比では 20% もの誤差を生じた．もちろん，混合比が1/1より離れるほど一般的に誤差が多きくなるが，混合割合の大きい試料の精度はあまり落ちない．したがって，そういった試料の吸収極大におけるモル吸光係数と等吸収点におけるモル吸光係数の大きさがあまり変らなければ，一般的には普通の方法よりこの方法を使って定量するほうが測定精度がよい．

今回の測定は主として強酸性溶液中で，つまりクロルフェノールの分子形で行なったが，強塩基性溶液中で，つまりイオン形で行なっても同じような結果がえられた．

クロルフェノールは水に難溶なので，溶媒として含水エタノール溶液を使ったが，エタノール含量は0.1～5%の間では，吸光度にほとんど影響しなかった．pH 緩衝液の入っていない 10^{-3} Mの含水エタノール溶媒のクロルフェノール保存液の吸光度は1週間で約 10% 減少したが，酸または塩基を添加してクロルフェノールを完全に分子形かイオン形にしておくと，吸光度の減少は1%程度に止まった．いずれにしても冷暗処に保存することが望ましい．また，混合試料の吸光度も経時変化をするので，混合後できるだけ早く測定した．

この方法は，複雑な計算など[3]をしなくても，新しい見方の等吸収点の波長における試料溶液の吸光度と示差吸収極大の波長における吸光度だけを測定すれば，簡単に2種の類似構造を持った混合試料の分析ができる．しかし，その2種の試料が既知でなければいけない点が最大の弱点である．

結　論

2種の物質の合計濃度が一定でその混合比のみが変化する溶液の吸収スペクトル曲線群は等吸収点を生ずる場合が多い．また，同じ濃度の2物質の示差スペクトルを測定すると，吸収の差の極大の波長が直ちにわかる．この2種の波長における各試料のモル吸光係数を測定しておくと，その2種の物質の混合溶液で各濃度が未知であっても簡単に定量できる方法を理論的に見出した．

そこで実際の例に適用できるかどうかをクロルフェノール類を使って確かめたところ，かなり良い結果をうることができたので，この方法は類似構造を持った試料の混合物の分析に実用性のある簡便なよい方法であるといえよう。