A half gram of sample was treated with hydrofluoric acid, sulfuric acid (1+1) and perchloric acid to remove silica, and majority of iron and aluminum was removed by precipitation with aqueous ammonia. The solution was made up to 100 ml, and its aliquot was neutralized with 2N sodium hydroxide solution. To it were added 1 ml of 5% hydroxylamine hydrochloride solution, 1.5 ml of 3% calcium chloride solution, 1 ml of Titan-Yellow solution, 5 ml of CMC solution and 5 ml of 1N sodium hydroxide solution, and the volume was made up to 50 ml. After 15 min. the absorbance at 530 m μ was measured against water as the reference.

The temperature of the solution between 20°C and 35°C did not influence the color development. The optimum volume of 3% calcium chloride was 1.5 ml. The results of analysis agreed well with those by the JIS method, and 2 hours was needed for an analysis. The error was within 1% with good reproducibility of values.

(Received Feb. 17, 1969)

薄層クロマトグラフィー分離物質の赤 外全反射吸収スペクトル迅速測定法

田中誠之, 松井とも子, 柳生不二子*

(1969 年 3 月 8 日受理)

1 緒 言

薄層クロマトグラフィー (以下 TLC と略記) は確認手段のほかに分離抽出手段として多数の報告がある。それらの分離物のスペクトル測定について最も一般的方法としては、分離用 TLC 法で多量の試料を多数回展開し分離帯をかきとり抽出して、赤外吸収スペクトルを測定する方法が行なわれているが、しかしこの方法では多くの時間と労力を要する欠点があり、したがってこれに対する改善法として二、三の報文が発表されている^{1)~3)}。しかしこれらの改良も特殊装置を必要としたり、また技術的にかなり熟練を要すると思われ、すべてに普遍的方法とはいえない。そこでより簡単迅速にスペクトルの知見を得るために赤外全反射吸収スペクトル法 (以下 ATR 法と略記) を併用する方法について検討を行なった。

2 実験方法, 結果および考察

2.1 装 置

赤外分光光度計: 日本分光 IR-S 型分光光度計, 日立 EPI-G2 型分光光度計 およびおのの 付属多重反射 ATR 装置, 高屈折率媒質としては KRS-5, 特に日立製の場合は複光束型 ATR 装置を用いた。なお, 反射回数は 11 回および 25 回である。

薄層クロマトグラフ: 三田村理研 TLC 装置 および Carl Schleicher & Schüll 製 TLC ペーパーを用いた。

2.2 試 薬

後述の TLC の展開溶媒および標準物質には東京化成または日本理化製特級試薬を用いた。

2.3 TLC 分離物のスペクトル測定法

予備実験としていくつかの標準物質についてアルミナペーパーで展開を行ない, 各分離帯についてスペクトル測定を行なった。測定には展開後の分離帯をペーパーのまま展開方向に直角に帯状に切り取り, これを台形の KRS-5 の大きさに合わせて全反射面上に置き, Nujol およびエチルアルコールを加えて金属ホルダーで固定したが, KRS-5 と試料片との密着をよくするためにゴムなどの弾性物質を間にそう入した。なお, 分離帯の確認には, ペーパーの適当な位置を展開方向に平行に 2 mm 程度の幅に切り取り, これをおのの発色させて確認を行なった。また複光束 ATR を使用する場合は, 補償光路側に試料光路側と同種類のペーパーに同じく Nujol, エチルアルコールを加えたものを入れ ATR スペクトルの測定を行なった。この際両者を含浸させる目的は次のとおりである。まず Nujol の使用はペーパーと KRS-5 の密着性を改善するためであり, これは Fig. 1, a および 1, b に示すように Nujol を含浸させた場合のほう

Fig. 1 IR spectra of aluminum oxide paper by multiple ATR method (11 reflections)

a: The paper only; b: The paper containing Nujol;
c: The paper containing Nujol and ethyl alcohol

* 東京大学工学部: 東京都文京区本郷7丁目

また、エチルアルコールについては試料は吸着された状態で存在しているのでこれを脱離するために用いられるが、試料によっては Nujol のみで測定できる場合もある。Fig. 1, c にアルミナオキサイドペーパーに両者を含浸したときの吸収を示す。以上の測定を行なうに際し、TLC の操作法を次に示す。TLC ペーパーは $20 \times 20 \text{ cm}$ の大きさに切り取り、下から 1.5 cm のところを原点とし試料の 5% または 10% 溶液の 0.1 ml を直線状に塗布し、おのおの適当な溶媒で 10 cm または 15 cm の展開を行ない、前述のように R_f 値の該当する部分を赤外測定用試料とした。

2.4 測定結果

実際の応用例として *o*- および *p*-ニトロトルエン、2, 4-ジニトロトルエン混合物を取り上げ、各 5% 混合ベンゼン溶液 0.1 ml をアルミナペーパーにプロットし *n*-ヘプタンで展開したところ、*o*- および *p*-ニトロトルエン R_f 値 0.5, 2, 4-ジニトロトルエン 0.1 の 2 個の分離帯に分離した。この部分をおのおの測定したところ Fig. 2, a および 2, b に示すようなスペクトルが得られた。一方、*o*-, *m*-, *p*-アニシジン混合物についても、同じくアルミナペーパーを用いて *n*-ヘプタン : ジエチルアミ

ン (5000 : 1) で 15 cm 展開するとき、*o*-アニシジン R_f 値 0.3, *m*- および *p*-アニシジン 0.1, にそれぞれ分離し赤外測定を行なったところ Fig. 2, d および 2, e に示すスペクトルが得られた。なお、後述するようにならかなり多量の試料を展開するため、 R_f 値はその精度を 0.1 以下にできなかった。

2.5 定量的取り扱いについての検討

o- および *p*-ニトロトルエンの場合 Fig. 2, c に示すように *p*-体および *o*-体の key band としておのおの $840, 860 \text{ cm}^{-1}$ を用いて濃度比に対し吸光度比を求めた。これを Fig. 3, a に示す。この場合 860 cm^{-1} には、*o*-体のほかに *p*-体の吸収が重なっているため、*o*-体の濃度が 0 の際でも吸光度比は 0 とはならない。以上の関係を *m*- および *p*-アニシジンについても同様に求めてみると、Fig. 3, b のような関係が求められる。この時の key band は Fig. 2, f に示すように *m*-アニシジン 1210 cm^{-1} , *p*-アニシジン 1230 cm^{-1} である。

Fig. 2 IR spectra of separated compounds on TLC paper by double beam system of multiple ATR method (25 reflections)

a : *o*-, and *p*-nitrotoluene mixture; b : 2,4-dinitrotoluene; c : Close up of key bands for estimation of mixture of *o*- and *p*-isomer; d : *o*-anisidine; e : *m*- and *p*-anisidine mixture; f : Close up of key bands for estimation of mixture of *m*- and *p*-isomer

Fig. 3 Calibration curve for the relation between ratio of optical density and of concentration by double beam system of multiple ATR method (25 reflections)

a : *o*- and *p*-nitrotoluene mixture, key band (*o*- 860 cm^{-1} , *p*- 840 cm^{-1}); b : *m*- and *p*-anisidine mixture, key band (*m*- 1210 cm^{-1} , *p*- 1230 cm^{-1})

以上二つの測定から濃度比と吸光度比の間にだいたい直線関係が認められるので、TLC の一つの分離帯に 2 成分が混合しているときおのおのの大略の混合比をこの方法で求めることも可能である。しかしその誤差については少なくとも $\pm 10\%$ 程度は考慮しなければならなかった。

2.6 応用についての考察

従来の方法ではスペクトル測定終了までかなりの長時間と複雑な手段を必要としたが、上記方法では展開時間をも含めて 1~2 時間程度と思われる。この方法の利点として次のようなことが考えられる。

(1) 応用面では短時間で官能基の有無、置換形式などについての知見、分離帯が単一であるかまたは混合物であるかの推定、またどのような化合物であるかの推定、同一分離帯に 2 成分が混合している際その混合比についての半定量的知見などの検討が可能である。

(2) 抽出法では担体中の不純物をも抽出してくる可能性があるが、この方法ではほとんど無視できると思われる。

しかし欠点としては、(1) ペーパー、Nujol およびエチルアルコールの吸収が妨害吸収となり、複光束 ATR 装置を用いても一部の領域の測定が困難であり、また、(2) 赤外吸収スペクトルの測定自体が極微量サンプルに不適当であるため、この方法でもマイクロ ATR 装置を利用しないかぎり前述のようにかなり多量の試料を展開しなければならず、最低限度 R_f 値 0.1 以上離れたものでなければ物質の分離が困難である。

3 ま と め

(1) 多重反射 ATR 装置を用いて TLC ペーパー上に分離した有機物の分離帯を切り取り KRS-5 の全反射面にのせ、Nujol、エチルアルコールを含浸して密着させることにより赤外吸収スペクトル測定を行なった。この結果 TLC 分離物のスペクトルからの知見を簡単迅速に得ることが可能となり、各方面に利用できるものと思われる。

(2) 上記方法で *m*- および *p*-アニシジン混合物、*o*- および *p*-ニトロトルエン混合物につき各濃度比に対し吸光度比を求めたところ、ほぼ直線的関係を得ることができ、同一分離帯に 2 成分が混合している際その混合比について半定量的考察が可能であることが判明した。

(昭和 43 年 10 月、本会第 17 年会において講演)

文 献

- 1) D. D. Rice : *Anal. Chem.*, **39**, 1906 (1967).
- 2) R. N. McCoy, E. C. Fiebig : *ibid.*, **37**, 593 (1965).
- 3) K. Beyerman, E. Röder : *Z. Anal. Chem.*, **230**, 347 (1967).

☆

Rapid ATR measurement of organic compounds separated by TLC method. Shigeyuki TANAKA, Tomoko MATSUI and Fujiko YAGYU (Department of

Industrial Chemistry, Faculty of Engineering, University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo)

Infrared spectra of compounds separated by TLC paper method were measured rapidly by use of double beam system of multiple ATR method.

(1) Separated zone was cut, set on the both side of KRS-5 plate with Nujol and ethyl alcohol, fixed by a metal holder and subjected to the measurement. Mixtures of *m*- and *p*-anisidine and of *o*-, *p*-nitrotoluene and 2,4-dinitrotoluene were separated and measured as examples. The former was separated by aluminum oxide TLC paper and *n*-heptane, and the latter by the same paper and *n*-heptane diethylamine mixed solvent (5000:1). The R_f value were 0.3 for *o*-anisidine, 0.1 for *m*-, *p*-anisidine, 0.5 for *o*-, *p*-nitrotoluene and 0.1 for 2,4-dinitrotoluene.

(2) The relations between the concentration ratio and optical density ratio for *o*- and *p*-nitrotoluene and *m*- and *p*-anisidine respectively were studied. The results showed good linearity.

(Received Mar. 8, 1969)

滴下水銀電極の温度がポーラロ

グラフ波に及ぼす影響

村 木 篁*, 佐 藤 弦**

(1969 年 3 月 22 日受理)

1 序 言

滴下水銀電極に流れ込む水銀の温度は、必ずしも電解液の温度と同じでない。したがって、水銀滴と溶液とが熱平衡に達していない可能性のあることは、すでに千田らによって指摘されている。このことがポーラログラフ波にどんな影響を及ぼすかをみるため、Fig. 1 のような装置を用いて半定量的な実験を行なった。

2 実験と結果

2.1 装置と試薬

電解そうを $30.0 \pm 0.02^\circ\text{C}$ に保ち、滴下極用毛细管の上半分とその上の水銀柱とをジャケットで包み、このジャケットに一定温度 (10, 30, 50°C) の水を流した。毛细管は、シリコン処理した square cut 型のもので、 $m = 1.73 \text{ mg sec}^{-1}$, $t_d = 4.96 \text{ sec}$ (0.1M KCl 中 30°C , 開回路、水銀圧 60cm) の特性であった。この条件で、毛

* 慶応義塾大学医学部薬理学教室：東京都新宿区信濃町

** 上智大学理工学部：東京都千代田区紀尾井町