

比色分析(分光光度分析)

本実験の目的

銅 - アンモニウム錯体の発色と可視分光光度計を利用し、黄銅(真鍮)に含まれる銅の含有率を決定する。

キーワード: Lambert の法則、Beer の法則、光の吸収、吸収スペクトル、検量線、錯イオン

実験原理

目に見える波長(約 400 ~ 800nm)の光は可視光と呼ばれ、これより短い波長の光を紫外線と呼ぶ。可視・紫外領域の光が物質を通過する際、光のエネルギーにより物質の電子状態に変化(電子遷移)が生じ、そのエネルギーの一部を失う。この現象を吸収と呼び、光が失うエネルギーはその物質の電子状態に対応している。

そこで、どの波長の光により物質に変化が生じるかを調べるため、可視 ~ 紫外領域の範囲で光の波長を連続的に変えながら試料に照射し、試料から透過した光との強度比の関係より、その物質の状態ならびに成分を定量する方法を分光光度分析(spectrophotometric analysis)という。

また、分光光度分析のなかでも可視光域における光の吸収を扱うものを比色分析という。

1. 光吸収の法則

比色分析を行うにあたり、以下に述べる光吸収の基本法則を理解する必要がある。

- Lambert(ランベルト)の法則: 等方性物質(溶液)の光吸収は、光路長に依存する。
- Beer(ベール)の法則: 等方性物質(溶液)の光吸収は、濃度に依存する。
- Grotthuss-Draper の法則(光化学の法則): 物質に吸収された光のみが光化学変化を起こし得る。すなわち、吸収波長以外の光を照射しても反応は生じない。



図1 溶液による光の吸収

図1に示すように強度 I_0 の入射光が、光路長 L の吸収セルに満たされた濃度 C の物質(溶液)を通過した際、物質により吸収された光(吸収光: I_a)ならびに吸収されずに透過した光(透過光: I)の強度の関係は、

$$I_0 = I_a + I + (I_r) \quad (1)$$

で表すことができる。なお、 I_r は反射光を意味するが、この値は非常に小さいため一般に無視する。その結果、入射光 $I_0 =$ 吸収光 $I_a +$ 透過光 I という関係が成立する。

この関係に Lambert および Beer の法則を適用すると、 I_0 と I との関係は次のように表される。

$$\log(I/I_0) = -K \cdot C \cdot L \quad (2)$$

この(2)式の間係を Lambert - Beer の法則という。ここで K は吸光係数といい、入射光の波長と溶液との性質に関する比例定数である。

また、 I/I_0 を透過度(transmittance)といい、(3)式に示すように T で表す。なお、透過度は透過パーセント($\%T$)で表されることが一般である。

$$T = I/I_0 \quad (3)$$

さらに $\log(1/T)$ を吸光度(absorbance)といい、(4)式に示すように E で表す。

$$E = \log(1/T) = -\log T \quad (4)$$

これら(3)および(4)式を(2)式に代入すると、

$$E = -\log T = K \cdot C \cdot L \quad (5)$$

となる。すなわち Lambert - Beer の法則が物質に固有な(特定)波長において成立するということは、物質の濃度 C と吸光度 E との間に直線関係が成立し、その直線の傾斜は KL であることを意味する。

ここで K の値は、 L や C の値や単位により異なるが、一般に L の単位を 1cm 、 C の単位を g/l とした場合の K を吸光係数(absorptivity)という。さらに C を 1mol/l で表す場合には K の値をモル吸光係数(molar absorptivity)と呼び ϵ で表す。このように L を一定にした状態で既知濃度 C の試料を用いて吸光度 E を測定し、 K (あるいは ϵ) を求めておけば、濃度未知の試料溶液について吸光度を測定することにより濃度を求めることが可能となる。これが Lambert - Beer 則の応用である。

2. 吸収スペクトル(absorption spectra)・・・吸収曲線(absorption curve)

光の波長と各波長における光吸収との関係を図示したものを吸収スペクトル(吸収曲線)といい、一般に横軸に波長(wavelength: nm)を、縦軸には吸光度 E または透過パーセント $\%T$ が用いられる。なお、吸収曲線には溶液中の物質濃度や吸収セルの長さ(光路長)、温度および対照(通常は溶媒)には何を用いたか等を明記する。また、必要に応じ最大吸収波長も明示するとよい。

3. 検量線(calibration curve)

定量される物質の濃度 C と吸光度 E との間に Lambert - Beer 則((5)式)が成立するならば、液層であるサンプルセルの長さ(光路長 L)を一定とすれば $K \cdot L$ は定数となる。

そこで、一般的には K を求めずに L を一定とし、まずいくつかの濃度既知の試料を用いておのこの試料濃度 C と吸光度 E との関係を図示した原点を通る直線、すなわち検量線を作成する。さらに濃度未知の試料の吸光度を測定し、この検量線を用いて吸光度から濃度を求めることが可能となる。

濃度の単位として、 1ml 中に含まれる定量成分(元素)の mg または μg 、すなわち mg/ml または $\mu\text{g/ml}$ が一般に良く用いられる。また、検量線の作成に用いた波長や吸収セルの長さ(光路長)、何を対照に用いたか等を明記する。

可視分光光度計 (visible spectrophotometer)

一般に可視分光光度計は図2に示すように光源部・分光器・試料部・測光部・指示部より構成される。

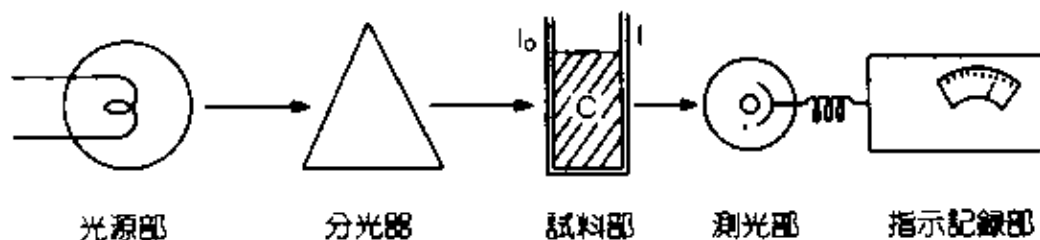
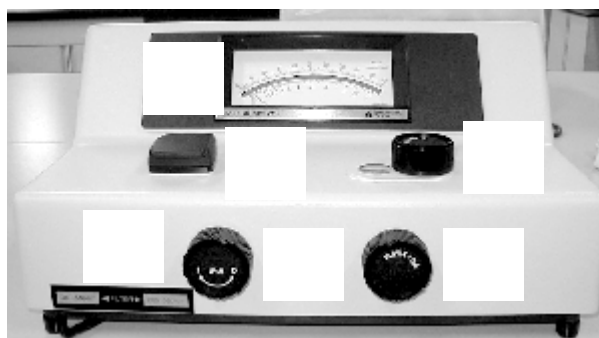


図2 分光光度計の構成例

光源から出射した光は分光器にて単色光に分けられ試料に照射される。試料を通過した光は検出器に到達し、光の量が電気信号に変換される。これを増幅し、表示部に吸光度または透過パーセントとして表示される。



電源スイッチ (アナログ式の場合、0%*T* 調整ダイヤルを兼ねる) ,
波長設定ダイヤル, 波長フィルタ切替レバー, セルホルダー,
吸光度 0調整 (100%透過)調整ダイヤル, 測定結果表示部

図3 分光光度計の概略ならびに各部名称

実験操作

1. Cu^{2+} 標準溶液の調製

- (1) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 約 0.4g を精秤し、50ml メスフラスコに入れ、蒸留水にてメスアップする。
なお、この溶液 1ml 中の Cu^{2+} のモル数 (mol/ml) を各自で計算して求めておくこと!
- (2) Cu^{2+} 標準発色液の調製: 上記(1)で調製した Cu^{2+} 標準液を、メスピペットを用い 1.00ml, 2.00ml, 5.00ml, 10.00ml ごとに 50ml メスフラスコにピペットアウトし、それぞれに 6M- NH_4OH 20ml を加え、蒸留水にてメスアップする。
- (3) 対照液として、蒸留水: 6M- NH_4OH = 15ml: 10ml (容量比) を調製する。

2. アンモニア法による銅の吸収スペクトル

- (1) 吸収セル(アルコール水溶液中に浸されている)を2本用意し、水洗後、1本に対照液を、もう1本には前記操作1(2)で調製した検液(5ml ピペットアウトし 50ml にメスアップしたものを)を入れる(吸収セルはそれぞれ、対照液・検液で共洗いしてから利用する)。
- (2) 分光光度計のスイッチ を回して電源を入れ、15分間待ち装置の安定を図る。
- (3) 波長設定ダイヤル を設定波長(初回は 400nm に)セットする。
- (4) フィルタ切替レバー を左側(599nm 以下の場合、600nm 以上の場合には右側)にセットし、表示 を見ながら透過が0%となるように 0%T 調整ダイヤル をセットする。
- (5) 対照液の入ったセルをセルホルダー に(Iの文字が手前に来るように)入れ、蓋をする。
- (6) 表示 を見ながら吸光度 0調整(100%透過)調整ダイヤル をセットする。
- (7) 対照液セルをセルホルダー から取り出す。
- (8) セルホルダー に検液セルを入れ、蓋をし、 に表示された吸光度を読み、記録する。
- (9) セルホルダー から検液セルを取り出す。
- (10) 上記(8)~(9)の操作を繰り返し3回行い、吸光度の「繰り返し再現性」に大きな差がないことを必ず確認すること!
- (11) つづいて500,600,700nmについても上記(3)~(10)の操作を行い、400~700nmの範囲で最大の吸光度が得られた波長を中心に、前後30nmを10nmおきに上記(3)~(11)の操作を行う(例えば最大の吸光度が600nmで得られた場合、570,580,590,610,620,630nm)。
- (12) 得られた各波長における吸光度を方眼紙にプロットして吸収スペクトル線図を作成し、あわせて最大吸収波長を決定する。

3. 検量線の作製

- (1) 操作2(12)にて得られた「最大吸収波長」に波長設定ダイヤル をセットする。
- (2) 操作1(2)で調製した各濃度の Cu^{2+} 標準溶液を用い、前記操作2の(3)~(11)の操作を行い、検量線を作製する。

なお、今回の実験に限り、検量線の濃度単位は mg/50ml としてよい。

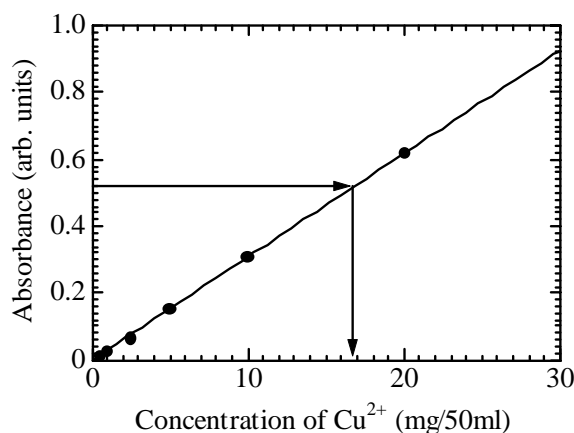


図4 銅 - アンモニウム錯イオンの検量線 (例)

(検量線を用いれば、図中の矢印で示すように、吸光度より未知試料の濃度が求められる)

4. 未知試料の調製と測定

- (1) 黄銅(真鍮ともいう)約 0.1g を精秤し 100ml ビーカーに入れ、6M-HNO₃ 10ml を加え、ドラフトチャンバー中で加熱・溶解する。
- (2) 溶解が始まると NO_x が発生し、さらに HNO₃ の揮散と共に白煙が発生する。白煙の発生が治まり、溶液が粘性を帯びた段階で加熱を終了する。決して突沸・乾固させないこと!
- (3) 上記(2)の試料に約 20ml の蒸留水を加え溶解し、ビーカーの洗液と共に 50ml メスフラスコに入れ、蒸留水にてメスアップする。この溶液を未知試料とする。
- (4) 未知試料 10ml を 50ml メスフラスコにピペットアウトし、6M-NH₄OH 20ml を加え、蒸留水にてメスアップする。この溶液を検液とする。
- (5) 検量線作製に用いた「最大吸収波長」に波長設定ダイヤル をセットする。
- (6) 上記(4)で調製した検液を用いて操作 2(4)~(10)の操作を行い、吸光度を求め、各班にて作製した検量線より未知試料中の銅の濃度を求める(求め方は図4を参考とする)。得られた濃度をもとに、試料(黄銅)中の銅含有量(mass%)を算出する。

実験結果(ディスカッションの際に必要となる結果)

- (1) アンモニア法による銅の吸収スペクトルを図示する。
- (2) アンモニア法による銅の検量線を図示する。
- (3) 検量線より求めた未知試料中の銅の濃度。また、黄銅中の銅含有率の算出結果。

レポート課題

- (1) 銅 - アンモニウム錯体とは何か? その(配位)構造ならびに吸収波長は?
- (2) 黄銅(真鍮)とはどのような材料(種類・成分・利用用途)であるか?
- (3) 分光光度分析(比色分析)以外の溶液を検体試料とする分光分析法(例えば原子吸光分析法や発光分光分析法)を調査し、その原理や利点等について簡潔に説明せよ。

以上