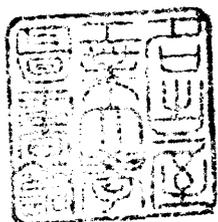


ヘテロ環アゾ化合物の合成と 分析化学への応用

石 附 朋 典



1. 8. - 8

ヘテロ環アゾ化合物の合成と 分析化学への応用

石 附 朋 典

目次

ページ

第1章	緒論	… 1
第2章	試薬の合成	… 6
2. 1	2-(2-チアゾリルアゾ)安息香酸誘導体	… 6
2. 2	キノリン環の2位にアゾ基をもつ化合物	… 10
2. 3	アセチルアセトンのアゾ化合物	… 12
2. 4	その他のアゾ化合物	… 15
第3章	2-(2-チアゾリルアゾ)安息香酸誘導体に関する研究	… 23
3. 1	試薬と装置	… 23
3. 2	試薬の酸解離定数	… 25
3. 3	金属イオンとの反応及び錯体の生成定数	… 33
3. 4	分析化学への応用	… 45
3.4.1.	ニッケルの指示薬としての2-(2-チアゾリルアゾ)安息香酸誘導体	… 45
3.4.2.	コバルトの比色試薬としての2-(2-チアゾリルアゾ)-4-メチル-5-(スルホメチルアミノ)安息香酸(TAMSMB)	… 51
3.4.3.	実試料への応用	… 58
	(1)試薬特級ニッケル塩中の微量コバルトの定量	… 58
	(2)ガラス中の微量コバルトの定量	… 59
	(3)鉄鋼中のコバルトの定量	… 60
3.4.4.	2-(2-チアゾリルアゾ)-4-メチル-5-(スルホアルキルアミノ)安息香酸類縁体を用いるフローインジェクション法による銅(II)の定量	… 70
3.4.5.	フローインジェクション分析におけるピークの形状におよぼす装置(ポンプ、ミキシングコイル、ミキシングジョイント)の影響	… 77

第4章	キノリン環の2位にアゾ基を有する化合物に関する研究	… 90
4. 1	カルシウムの比色試薬としての2-[2-(8-ヒドロキシキノリル)アゾ]-1-ナフトール(HQAN)	… 90
第5章	アセチルアセトンのアゾ化合物に関する研究	…101
5. 1	試薬と装置	…102
5. 2	Azono1A-1のX-線による構造決定	…102
5. 3	酸解離定数	…111
5. 4	金属イオンとの反応	…116
5. 5	分析化学への応用	…121
第6章	キシレノールオレンジ錯体に関する研究	…125
6. 1	キシレノールオレンジ(XO)のプロトン付加及び XO-Cu(II)の平衡論	…125
6. 2	XO-Cu(II)のヘキサミン存在下におけるEDTAによる 置換反応	…147
6. 3	XO-Cu(II)のフェナントロリン存在下におけるEDTA による置換反応	…158
第7章	結 言	…173
第8章	謝 辞	…175
	著者発表の研究論文	…176

第1章 緒 論

多くの機器分析法の中で吸光光度法は最も広く利用される分析法の一つである。これは操作が簡単、装置が比較的廉価で入手できる等の特徴を有するのにも一因であるが、それにもまして分析法の原理をなす呈色反応が多種多様の化学種にわたっており、応用範囲が広いことが最大の理由である。従って、新しい有機試薬（呈色試薬）の開発は分析化学において非常に重要な仕事であり現在も盛んに研究が行なわれている。特に近年、モル吸光係数が $10^5 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ を超す高感度試薬（ヘテロ環アゾ化合物）が次々と合成されている。これら高感度試薬^{1) 2)}の構造上の特徴はアゾ基のパラ位にアミノ基やN-アルキル置換アミノ基などの電子供与性の助色団が存在することであり、charged quinoidal formの形成に好都合な構造となっていることである。

一般に、比色試薬はその感度、選択性、試薬ブランクなどによって優劣が決められるが、高感度な試薬の場合は特に選択性が重要である。又、実際の分析を行なうにあたっては操作が簡単であることが望ましい。すなわち、高感度試薬としての性質をそこなわずに水溶性を付与することは水と混じらない有機溶媒を使う抽出法に比べて、操作が非常に簡単になる。試薬に水溶性を付与する方法として、これまではベンゼン環等に直接スルホン基を導入する方法がとられてきたが、著者はヘテロ環アゾベンゼン誘導体のアゾ基のパラ位にあるアミノ基の水素をスルホアルキル基（ $-\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$ 、 $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_3\text{H}$ ）で置換する方法を考案した。スルホアルキル基を導入することにより試薬に水溶性を付与させると同時に試薬の感度も高めることができた。アミノ基のスルホアルキル化は試薬性能を損なわずに水溶化する良い方法である。また、試薬の水への溶解性はベンゼン環などに直接スルホン基を導入するよりも大きく、スルホアルキル基のアルキル基部分が、 $\text{CH}_2 < \text{C}_2\text{H}_4 < \text{C}_3\text{H}_6$ の順に水溶性が増大する。これは水溶液中ではアミノ基とスルホン酸基との間で双生イオンとして存在しているため、両者間の距離がはなれている方が極性保持に有効なためと考えられる。

又、選択性の優れた試薬とするためにアゾ基のオルト位にある配位基を $-\text{OH}$ から $-\text{COOH}$ に変換することによりその錯形成能が低下し、数種類の金属イオンとのみ錯生

成し選択性が向上することがわかった。

これらのことから著者は水溶性高感度、高選択性試薬として、2-(2-チアゾリルアゾ)安息香酸誘導体及び類縁化合物を種々合成した。第2章にこれら試薬の合成法について述べた。

第3章では2-(2-チアゾリルアゾ)安息香酸誘導体の性質、金属イオンとの反応及び実用分析への応用について記述した。

合成した2-(2-チアゾリルアゾ)安息香酸誘導体の構造式を下に示す。

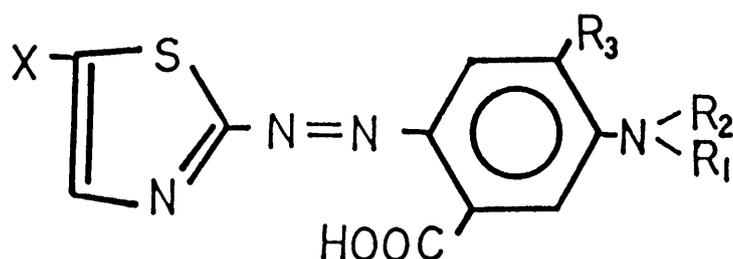


Fig.1. 2-(2-Thiazolylazo)benzoic acid derivative

ここで、X, R₁, R₂, R₃は次に示してある Table 1の通りである。

Table 1.

試薬の略称	X	R ₁	R ₂	R ₃	Ref.
TAMB	H	-CH ₃	-CH ₃	H	2)
TASMB	H	H	-CH ₂ SO ₃ H	H	2)
N-Et-TASMB	H	-CH ₂ CH ₃	-CH ₂ SO ₃ H	H	4)
TAMSMB	H	H	-CH ₂ SO ₃ H	-CH ₃	3)
5-Br-TAMSMB	Br	H	-CH ₂ SO ₃ H	-CH ₃	3)
TAMSEB	H	H	-CH ₂ CH ₂ SO ₃ H	-CH ₃	5)
TAMSPB	H	H	-CH ₂ CH ₂ CH ₂ SO ₃ H	-CH ₃	5)

TAMB: 2-(2-Thiazolylazo)-5-dimethylaminobenzoic acid

TASMB: 2-(2-Thiazolylazo)-5-(sulfomethylamino)benzoic acid

N-Et-TASMB: 2-(2-Thiazolylazo)-5-(N-ethyl-N-sulfomethylamino)benzoic acid

TAMSMB: 2-(2-Thiazolylazo)-4-methyl-5-(sulfomethylamino)benzoic acid

5-Br-TAMSMB: 2-(5-Bromo-2-thiazolylazo)-4-methyl-5-(sulfomethylamino)benzoic acid

TAMSEB: 2-(2-Thiazolylazo)-4-methyl-5-(sulfoethylamino)benzoic acid

TAMSPB: 2-(2-Thiazolylazo)-4-methyl-5-(sulfopropylamino)benzoic acid

上記の合成した化合物中TAMB以外は著者が合成した新化合物である。

これらの試薬中TAMSMBは同仁化学研究所(熊本市健軍町2861)より製品化され臨床検査での血清中の銅の定量及び銅鉱業所での排水中の銅の定量に広く用いられており、又ニッケルのキレート滴定における指示薬、コバルトの比色定量試薬としても広く用いられている。

比較のため配位基の1つ-COOHを-OHに変えた2-(2-チアゾリルアゾ)-5-(スルホメチルアミノ)フェノール(TASMP)²⁾、又チアゾール環をピリジン環に置換した2-(3,5-ジクロロ-2-ピリジルアゾ)-4-メチル-5-(スルホプロピルアミノ)安息香酸(3,5-diCl-PAMSPB)⁴⁾も合成した。

上記以外に合成した新しいアゾ化合物については、試薬の合成の項に記した。又、著者の合成した試薬との比較検討を行なうため、すでに合成されているピリジルアゾ化合物等を必要に応じて既報の方法を改良するなどして合成した。これらの試薬の合成法もそれぞれの項に記した。

カルシウムの比色試薬としてグリオキサリビス-(2-ヒドロキシアニル)、クロロフォスフォナゾ-III、o-クレゾールフタレインコンプレクソンなどが用いられているがグリオキサリ誘導体及びそのカルシウム錯体は不安定であり、溶液のpH、温度、放置時間により吸光度が変化する。^{6) 7)} 又、クロロフォスフォナゾ-IIIを用いるカルシウムの比色定量はマグネシウムの妨害なしでpH 2.2で測定できると報告されているが感度は低く、試薬ブランクが大きい欠点がある。⁸⁾ o-クレゾールフタレインコンプレクソンを用いるカルシウムの比色定量は感度が高く広く用いられているが、試薬ブランクが大きく、またマグネシウムによる妨害を大きく受ける。^{9) 10)}

又、2-(2-ヒドロキシ-3,6-ジスルホ-1-ナフチルアゾ)-5-(N,N-ジエチルアミノ)フェノールが合成され、フローインジェクション法を用いるカルシウム、マグネシウムの定量に応用されているが、この試薬も試薬ブランクが大きいので従来のバ

ツチ法には使用できない。¹¹⁾ 第4章ではカルシウムに対する選択性に優れた試薬の開発を目的として、カルシウムと反応する8-キノリノール(オキシシ)の2位にアゾ基を導入した化合物 2-[2-(8-ヒドロキシキノリル)アゾ]-1-ナフトール(HQAN)¹²⁾を合成し、カルシウムの比色試薬としての性質を検討した。HQANは四座配位子としてカルシウムとキレートを形成し、マグネシウムの妨害なしに飲料水中のカルシウムを定量することができた。

第5章では、強酸性下で金属イオンと反応し選択性に優れたアセチルアセトンのアゾ化合物を種々合成し、それらを詳細に研究した結果を記した。¹³⁾ アセチルアセトンとアンチピリンあるいはチアゾールとのアゾ化合物は合成法により二種類の異なった化合物が生成することを見だし、その化合物の構造も明らかにした。

第6章では、キレート滴定の指示薬として広く用いられているキシレノールオレンジ(XO)の銅(II)錯体の錯形成平衡の解析¹⁴⁾及び銅(II)-XOのヘキサミンあるいはフェナントロリン存在下におけるEDTAによる置換反応速度の決定及び反応機構について研究した結果を記した。^{15) 16)}

第1章 引用文献

- 1) 古川正道, 柴田正三, ぶんせき, (1980) 330
- 2) 石附朋典, 和田弘子, 中川元吉, 分析化学, 28(1979) 535
- 3) H. Wada, T. Ishizuki, G. Nakagawa, Anal. Chim. Acta, 135(1982)333
- 4) H. Wada, T. Ishizuki, G. Nakagawa, Bunseki Kagaku, 32(1983)E225
- 5) H. Wada, T. Ishizuki, G. Nakagawa, Mikrochimica Acta, 1983 III, 235
- 6) H. G. C. King and G. Pruden, Analyst(London), 94(1969)39
- 7) I. Iwasaki, M. Yoshida and S. Yoshida, Bunseki Kagaku, 20(1971)302
- 8) J. W. Ferguson, J. J. Richard, J. W. O' Laughlin and C. V. Banks, Anal. Chem., 36(1964)796
- 9) B. C. R. Sarker and U. P. S. Chauhan, Anal. Biochem., 20(1967)155
- 10) K. Oguma, S. Ishino and R. Kuroda, Bunseki Kagaku, 33(1984)280
- 11) H. Wada, G. Nakagawa and K. Ohshita, Anal. Chim. Acta, 159(1984)289
- 12) T. Ishizuki, K. Kodama, H. Wada and G. Nakagawa, Anal. Chim. Acta, 176(1985)63
- 13) T. Ishizuki, H. Wada and G. Nakagawa, Anal. Chim. Acta, 212(1988)253
- 14) T. Ishizuki, to be published
- 15) H. Wada, T. Ishizuki and G. Nakagawa, Talanta, 23(1976)669
- 16) H. Wada, T. Ishizuki and G. Nakagawa, Bull. Chem. Soc. Jpn., 50(1977)2104

第2章 試薬の合成

2.1 2-(2-チアゾリルアゾ)安息香酸誘導体及びその類縁体の合成

2.1.1. 2-(2-チアゾリルアゾ)-5-ジメチルアミノ安息香酸(TAMB)

2-アミノチアゾール(0.02モル)を3M塩酸中、0°Cで亜硝酸ナトリウムでジアゾ化し、この2-ジアゾチアゾール溶液を4M塩酸20mlと酢酸15mlの混合溶液に溶かした3-ジメチルアミノ安息香酸(0.02モル)溶液に0°Cで徐々に加え、カップリングさせた。カップリング後、この溶液にうすい水酸化ナトリウム溶液を加え、pH5にすることにより粗TAMBの沈殿を得た。この粗TAMBを濾過し、うすいアルカリ溶液に溶解し、酢酸で中和する再沈殿を繰り返し精製し、暗赤色結晶を得た。

(230°Cで分解) 元素分析の結果は $C_{12}H_{12}N_4O_2S$ として計算した値とよく一致した。分析値C:52.2%(計算値:52.16%)、H:4.4%(4.38%)、N:20.1%(20.28%)

2.1.2. 2-(2-チアゾリルアゾ)-5-(スルホメチルアミノ)安息香酸の合成(TASMB)

m-アミノ安息香酸(0.02モル)とヒドロキシメタンスルホン酸ナトリウム(0.02モル)を約40mlの水に加え、透明な黄色溶液になるまで約30分間水浴上で加熱した。一方、2-アミノチアゾール(0.02モル)を3M塩酸中0°Cで亜硝酸ナトリウムでジアゾ化した。2-ジアゾチアゾール溶液を上記の3-スルホメチルアミノ安息香酸の黄色溶液に0°Cで徐々に加え、カップリングさせた。析出した粗TASMBの沈殿を濾過した後、少量の水に溶かして濾紙カラム(東洋濾紙製濾紙粉末(100-200メッシュ)、φ1cm長さ30cmのガラス製カラムを用いて作製)を通して精製した。水で飽和した1-ブタノールで展開すると、カラム上で着色した四つの部分に分かれた。これを同じく水で飽和した1-ブタノールで溶出し、最初の桃色の部分と次の黄色の部分を除き、3番目の赤紫色の部分をつラスコに集めブタノールを減圧下で蒸発させると赤褐

色の結晶が得られた。銅(II)標準溶液による光度滴定で純度が97%以上になるまでこの操作を繰り返し精製した。得られたTASMBは220°Cで分解した。元素分析の結果は、 $C_{11}H_{10}N_4O_5S_2$ として計算した値とよく一致した。

分析値C； 38.2% (計算値：38.59%)、H：3.0% (2.94%)、
N：15.9% (16.37%)、S：18.0% (18.73%)

2.1.3. 2-(2-チアゾリルアゾ)-5-(N-エチル-N-スルホメチルアミノ)安息香酸(N-Et-TASMB)

3-エチルアミノ安息香酸はヨウ化エチルと3-アミノ安息香酸とから文献の方法¹⁾に従って合成した。N-Et-TASMBの合成及び精製は2.1.2の方法に従った。元素分析値は $C_{13}H_{14}N_4O_5S_2 \cdot 2H_2O$ として計算した値とよく一致した。(250°C分解)、分析値C：38.7% (計算値：38.41%)、H：4.3% (4.46%)、
N：13.9% (13.78%)

2.1.4. 2-(2-チアゾリルアゾ)-4-メチル-5-(スルホメチルアミノ)安息香酸(TAMSMB)

2.1.2.と同様な方法で合成した。粗TAMSMBを0.2M酢酸-酢酸ナトリウム溶液(pH5~6)に溶かし、濾過後濾液に1M塩酸を加えてpHを0.5-1とし沈殿させた。この操作を繰り返して純粋なTAMSMBの結晶を得た。4位にメチル基が存在することによりTASMBに比べて試薬の精製が簡単で収量が良くなった。純度は銅(II)標準溶液による光度滴定により97%以上であった。(240°Cで分解)元素分析の結果は $C_{12}H_{12}N_4O_5S_2$ として計算した値とよく一致した。分析値C：40.4% (計算値：40.44%)、H：3.4% (3.39%)、N：15.8% (15.72%)

2.1.5. 2-(5-ブロモ-2-チアゾリルアゾ)-4-メチル-5-(スルホメチルアミノ)安息香酸(5-Br-TAMSMB)

2-アミノ-5-ブロモチアゾールと3-スルホメチルアミノ-4-メチル安息香酸とから2.1.2.と同様な方法で合成した。粗5-Br-TAMSMBをpH5-6の酢酸-酢酸ナトリウム溶液に溶かし不純物を濾別した。濾液を1M塩酸でpH1にするとゼラチン

様沈殿が得られた。この溶液をpH3にすると5-Br-TAMSMBの結晶が得られた。元素分析値は $C_{12}H_{10}N_4O_5S_2BrNa \cdot H_2O$ として計算した値とよく一致した。分析値C: 29.3% (計算値: 30.32%), H: 2.6% (2.55%), N: 10.8% (11.79%)

2.1.6. 2-(2-チアゾリルアゾ)-4-メチル-5-(スルホエチルアミノ)安息香酸(TAMSEB)

3-アミノ-4-メチル安息香酸1.5gと2-ブロモエタンスルホン酸ナトリウム4.2gを水で飽和した1-ブタノール50ml中へ加え、還流しながらエタノール40mlにとかした1.1g水酸化カリウムを2.5時間かけて滴下した。この後減圧下で溶媒を蒸発させて、赤橙色の3-スルホエチルアミノ-4-メチル安息香酸を得た。得られた3-スルホエチルアミノ-4-メチル安息香酸をpH8の水溶液中へ加え、予め塩酸酸性下でジアゾ化しておいた2-ジアゾチアゾールを先の溶液中へ0°Cで少量ずつ加えた。カップリングを行なっている間、この溶液のpHを8付近になるようにアルカリ溶液で調節した。その後6M塩酸を加えpH約0.5とし、冷凍庫内に放置した。得られた粗TAMSEB沈殿をpH5~6の酢酸-酢酸ナトリウム溶液に溶かし、6M塩酸でpH約0.5にして冷凍庫内に放置した。この方法を繰り返して純粋なTAMSEBを得た。銅(II)標準溶液での光度滴定の結果、純度は97%以上であった。(250°C分解)

元素分析値は $C_{13}H_{14}N_4O_5S_2 \cdot H_2O$ として計算した値とよく一致した。

分析値C: 40.20% (計算値: 40.33%), H: 4.15% (4.15%)
N: 14.45% (14.43%)

2.1.7. 2-(2-チアゾリルアゾ)-4-メチル-5-(スルホプロピルアミノ)安息香酸(TAMSPB)

3-アミノ-4-メチル安息香酸(0.02モル)とプロパンスルトン(0.02モル)を50ml 1-ブタノール中に加え、これを水浴上で3時間加熱する。黄色の沈殿3-スルホプロピルアミノ-4-メチル安息香酸が得られた。これを用いて2.1.6.と同様な方法に従ってTAMSPBの合成、精製を行なった。純度は97%以上であった。

(180°C分解)。元素分析値は $C_{14}H_{16}N_4O_5S_2$ として計算した値とよく一致した。

分析値C：43.10%（計算値：43.74%），H：4.15%（4.19%），
N：14.13%（14.57%）

2.1.8. 2-（2-チアゾリルアゾ）-5-（スルホメチルアミノ）フェノール（TASMP）

2-アミノチアゾールと3-スルホメチルアミノフェノールとからTASMB同様な方法で合成した。水とアルコールとから再結晶し、黒色結晶が得られた。（220°C分解）

2.1.9. 3-（2-チアゾリルアゾ）-4-ジメチルアミノ安息香酸（p-TAMB）

2-アミノチアゾールと4-ジメチルアミノ安息香酸とから上記の試薬と同様な方法で合成した。このアゾ化合物はパラジウム（II）、銅（II）及び水銀（II）とのみ反応し、ニッケル（II）とは反応しなかった。従って、アゾ基のオルト位にカルボキシル基がなく、この試薬は二座配位子であると考えられる。

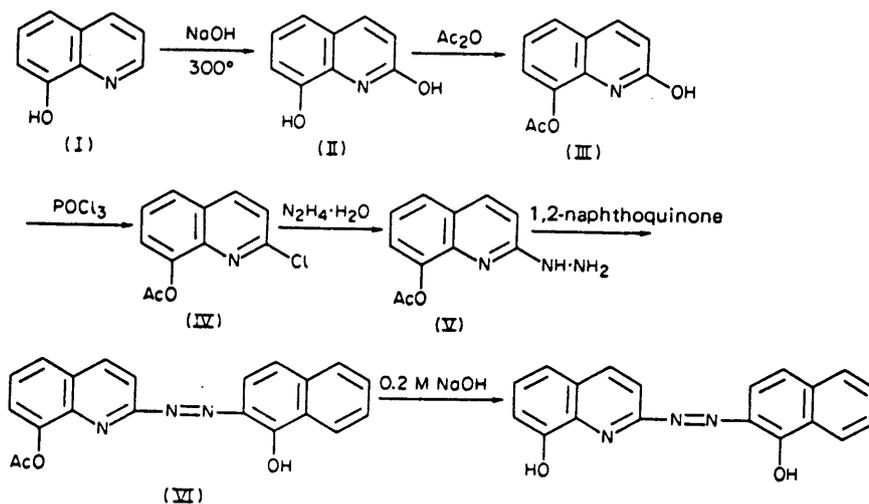
2.1.10. 2-（3,5-ジクロロ-2-ピリジルアゾ）-4-メチル-5-（スルホプロピルアミノ）安息香酸（3,5-diCl-PAMSPB）

3-アミノ-4-メチル安息香酸（0.02モル）とプロパンスルトン（0.02モル）を50ml1-ブタノール中に加え、これを水浴上で3時間加熱する。黄色の沈殿3-スルホプロピルアミノ-4-メチル安息香酸が得られた。2-アミノ-3,5-ジクロロピリジンは通常の方法でジアゾ化した。²⁾ 3-スルホプロピルアミノ-4-メチル安息香酸と2-ジアゾ-3,5-ジクロロピリジンを50mlエタノール中に加え、よく攪拌後炭酸ガスを15分間通気した。この溶液を濾過後、濾液を冷蔵庫内で一昼夜放置した。得られた赤色沈殿を濾過後メタノールで洗浄した。（205°C分解）元素分析値は $C_{16}H_{14}N_4O_5SCl_2Na_2$ として計算した値とよく一致した。分析値C：38.8%（計算値：39.12%），H：2.8%（2.87%），N：10.6%（11.40%）

2.2 2-[2-(8-ヒドロキシキノリル)アゾ]-1-ナフトール

(HQAN)の合成

以下の反応経路により合成した。



2,8-ジヒドロキシキノリンの合成 (II)

文献の方法³⁾を以下のように改良することによって合成した。60gの水酸化ナトリウムをニッケルビーカー中へとり、4mlの水を加える。これを直火で140°C前後に加熱すると均一溶液となる。ここへ15gの8-ヒドロキシキノリン(オキシシン)をニッケル棒で攪拌しながら少量ずつ加える。加え終わったら徐々に温度を上げ300°C前後で3時間反応させる。この間よく攪拌を続ける。内容物は鮮黄色から褐色へ変化する。反応終了後室温まで下げると内容物は固化する。ここへ200mlの水を加え、よく溶かし500mlビーカー中へ移し、20%硫酸でpH1~2とする。淡黄褐色沈殿が得られるのでこれを濾取し多量の水で洗浄、更に未反応オキシシンを除くためエタノールで洗浄する。収率は80%、融点284-5°C

2-ヒドロキシ-8-アセトキシキノリンの合成³⁾ (III)

先に得た2,8-ジヒドロキシキノリンを200mlピリジン中へ加え、よく攪拌する。こ

こへ2. 5当量の無水酢酸を徐々に加える。2時間攪拌の後、1夜放置する。こへ200mlの水を加え、濾過すると褐色結晶が得られる。収率80%、融点247-8°C

2-クロロ-8-アセトキシキノリンの合成 (IV)

通常の方法を用いて2-ヒドロキシ-8-アセトキシキノリンとオキシ塩化リンより合成した。粗2-クロロ-8-アセトキシキノリンをエタノール-水系より再結晶した。収率35%、融点80-1°C

2-ヒドラジノ-8-アセトキシキノリンの合成 (V)

先に得た2-クロロ-8-アセトキシキノリンを50mlヒドラジンヒドレート中へ加え、3時間還流を続け、空冷後水を加えると結晶となって析出した。この結晶を別後多量の水で洗浄した。収率80%、融点180°C

2-[2-(8-アセトキシキノリル)アゾ]-1-ナフトールの合成 (VI)

2. 2gの2-ヒドラジノ-8-アセトキシキノリンと1.6gのβ-ナフトキノンジオキサン60ml、酢酸40mlの混合溶液中へ加え水浴上で4時間加熱した。しばらく放置後、50mlの水を加えると暗赤色沈殿が得られた。

HQANの合成及び精製

先に得た2-[2-(8-アセトキシキノリル)アゾ]-1-ナフトールを0.1~0.2M水酸化ナトリウム溶液中加入し、しばらく放置しこれを濾過後、濾液を6M塩酸でpHを1~2とした。この操作を2回繰り返して粗HQANを得た。粗HQANを75mlジオキサン中加入し、よく攪拌後濾過し、濾液に75mlの水を加えた。この操作を4回繰り返すことにより純粋なHQANの赤褐色針状結晶を得た。融点212°C,

元素分析値は $C_{19}H_{13}N_3O_2 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ としての計算値とよく一致した。分析値C: 70.29% (計算値: 70.36%), H: 4.42% (4.35%)
N: 12.35% (12.95%)

2. 3. アセチルアセトンのアゾ化合物の合成

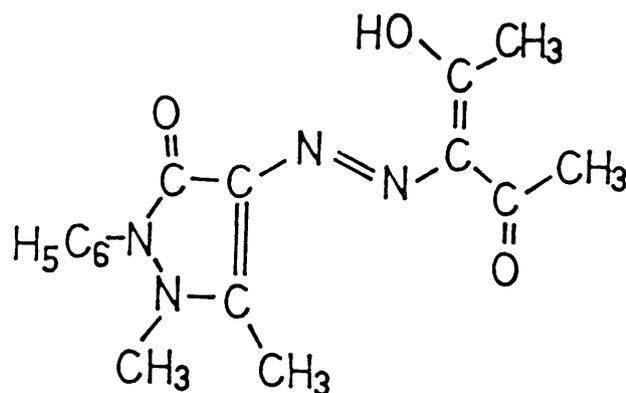
2.3.1. 1-(4-アンチピリニルアゾ)-1-(4-アンチピリニルヒドラジノ)プロパン-2-オン (Azonol A-1)

4-アミノアンチピリンを3M塩酸酸性下、0°Cで亜硝酸ナトリウムでジアゾ化した。この4-ジアゾアンチピリンとアセチルアセトン(ペンタン-2, 4-ジオン)を混合後5M水酸化ナトリウム中に徐々に加え、析出した沈殿を濾別した。この沈殿を希塩酸に溶かして水酸化ナトリウム溶液で中和する方法を繰り返して精製し、更に50%エタノール-水から再結晶し、暗赤色の結晶として得た。(130°C以上で分解)元素分析の結果は $C_{25}H_{26}N_8O_3 \cdot 2H_2O$ としての計算値とよく一致した。分析値 C: 57.81% (計算値 57.46%) H: 5.69% (5.78%), N: 21.38% (21.44%), なお、Azonol A-1の構造式については項を改めて説明する。

2.3.2. 3-(4-アンチピリニルアゾ)ペンタン-2, 4-ジオン (Azonol A-2)

4-ジアゾアンチピリンを1~2Mの水酸化ナトリウム溶液に懸濁したアセチルアセトンとカップリングさせて合成した。得られた黄色化合物を50%エタノール-水溶液から再結晶することにより純粋なAzonol A-2を得た。m. p. 180°C。元素分析値は、 $C_{16}H_{18}N_4O_3$ としての計算値とよく一致した。分析値 C: 61.34% (計算値 61.14%), H: 5.93% (5.77%), N: 17.89% (17.82%)

これらの結果から、Azonol A-2は、次の構造式をもつものと考えられる。



2.3.3. 1-(2-チアゾリルアゾ)-1-(2-チアゾリルヒドラジノ)

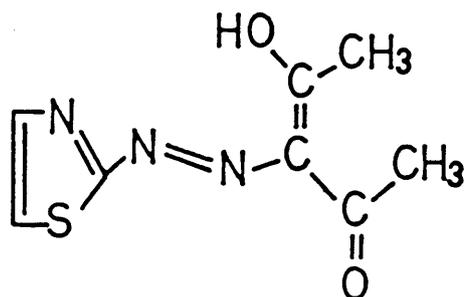
プロパン-2-オン (TAA-1)

2.3.1.の方法の従って2-ジアゾチアゾールとアセチルアセトンから得られた。赤色結晶、155°Cで分解する。元素分析の結果、 $C_9H_8N_6OS_2 \cdot H_2O$ としての計算値とよく一致した。分析値 C: 36.74% (計算値 36.24%), H: 3.19% (3.38%), N: 28.56% (28.18%)

2.3.4. 3-(2-チアゾリルアゾ)ペンタン-2,4-ジオン (TAA-2)

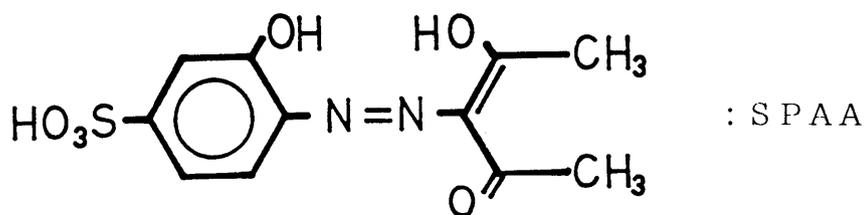
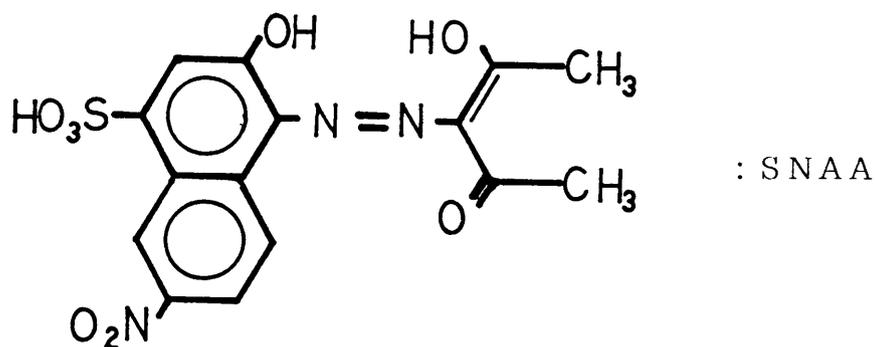
2.3.2.の方法に従って、2-ジアゾチアゾールとアセチルアセトンから得た黄色結晶は、m. p. 122°Cを示し、元素分析値は $C_8H_9N_3O_2S$ としての計算値とよく一致した。分析値 C: 45.40% (計算値 45.49%), H: 4.32% (4.29%), N: 19.83% (19.89%)

元素分析の結果から、TAA-2は次の構造式をもつものと考えられる。



2.3.5. アセチルアセトンとフェノール、ナフトールとから得られるアゾ化合物

2.3.1.あるいは 2.3.2.の方法に従って合成したが、いずれの方法によっても黄色アゾ化合物のみが得られ、先の赤色化合物に相当するものは得られなかった。得られた化合物の構造式は下記と考えられる。

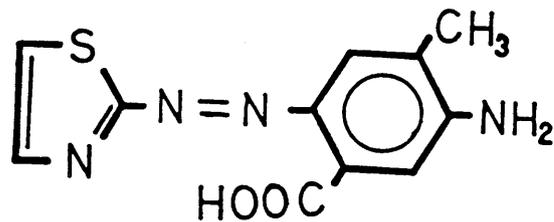


S N A Aは水溶性試薬である。pH<4.5で黄色を呈し(λ_{max} 413nm), pH>7.2で赤橙色を示す。(λ_{max} 477nm), $pK_a=5.72$ を得た。pH5で銅(II)と錯形成し、錯体の極大吸収波長は480nm(赤橙色)である。S P A AもS N A Aと同様な試薬であるが、詳しい検討は行なわなかった。

2.4 その他の試薬の合成

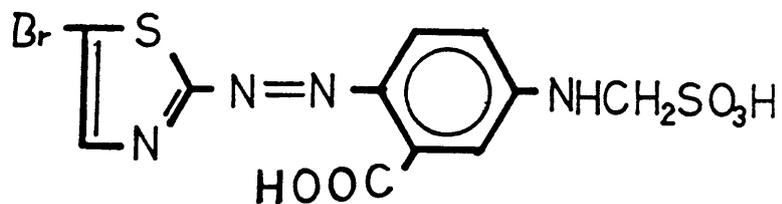
以下に示す種々の新しい化合物を合成したが、収量が悪く詳細な検討が出来なかった。合成法及び金属イオンとの呈色等定性的な実験の結果を記した。

2.4.1. 2-(2-チアゾリルアゾ)-4-メチル-5-アミノ安息香酸



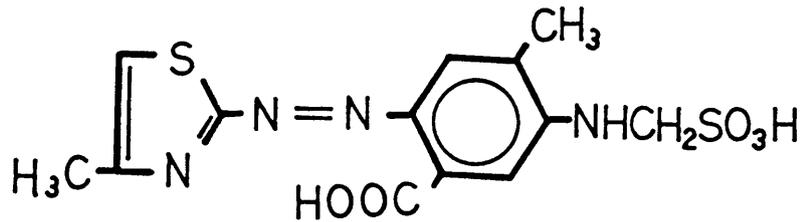
TAMSMBをアルカリ溶液中で加水分解することにより得られる。TAMSMB錯体と比べると、この試薬の錯体のモル吸光係数は小さい。この試薬についての詳しい検討は行なっていない。

2.4.2. 2-(5-ブロモ-2-チアゾリルアゾ)-5-(スルホメチルアミノ)安息香酸



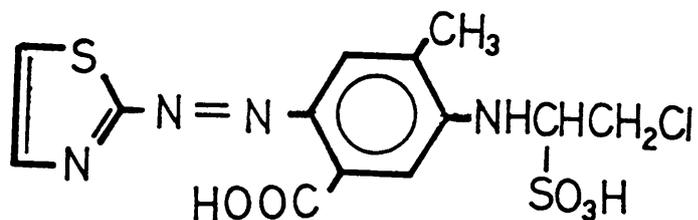
通常の方法でジアゾ化、カップリングを行なうことによって得られる。収量が少ない。

2.4.3. 2-(4-メチル-2-チアゾリルアゾ)-4-メチル-5-(スルホメチルアミノ)安息香酸



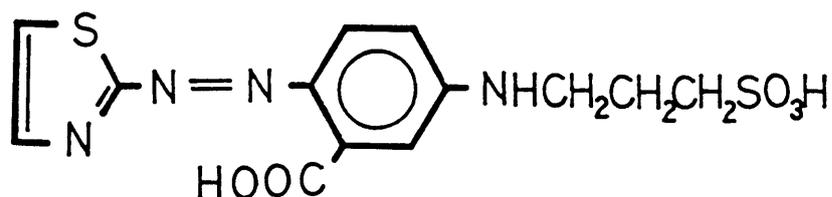
通常の方法でジアゾ化、カップリングを行なうことによって得られる。この試薬はpH 1で紫色、pH 5で橙色となり、pH 5で金属イオンと錯形成をし、銅(II)と青色、ニッケル(II)と紫色を呈する。しかし錯形成後しばらく放置すると退色した。TAM SMBと比べて水溶性も悪い。

2.4.4. 2-(2-チアゾリルアゾ)-4-メチル-5-(1-クロロ-2-スルホ)エチルアミノ安息香酸



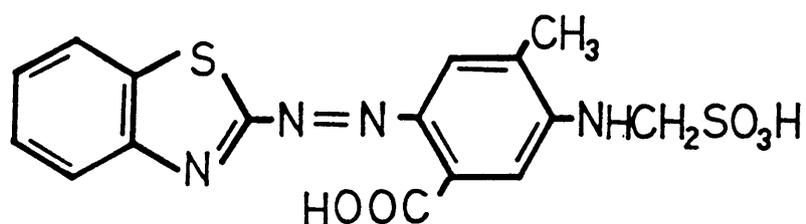
3-アミノ-4-メチル安息香酸と chloroacetoaldehyde sodium bisulfiteを水、エタノール混合溶液中に加え、温浴上で加熱することにより3-(1-クロロ-2-スルホ)エチルアミノ-4-メチル安息香酸を得、2-ジアゾチアゾールとカップリングさせ黒褐色結晶を得た。この試薬は強酸性で紫色、弱酸性で黄色を呈し、金属イオンとは銅(II)、ニッケル(II)、コバルト(II)、コバルト(III)と青紫、紫、赤、青色錯体を形成する。銅(II)錯体、コバルト(III)錯体の極大吸収波長はそれぞれ582 nm, 652 nmである。

2.4.5. 2-(2-チアゾリルアゾ)-5-(スルホプロピルアミノ)安息香酸



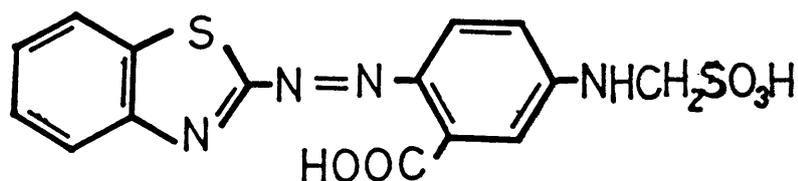
通常の方法でジアゾ化を行ない、カップリングは溶液のpHを8付近に保ちながら行なった。この溶液を塩酸酸性にすることにより沈殿が得られるが、水溶性が大きいため収量が悪い。この試薬は強酸性で紫色 (λ_{\max} 562 nm), 弱酸性あるいは中性で黄橙色 (λ_{\max} 489 nm) を示す。又、銅(II)、ニッケル(II)、コバルト(II)、コバルト(III)と錯形成し、極大吸収波長はそれぞれ606 nm, 572 nm, 560 nm, 654 nmである。

2.4.6. 2-(2-ベンゾチアゾリルアゾ)-4-メチル-5-(スルホメチルアミノ)安息香酸



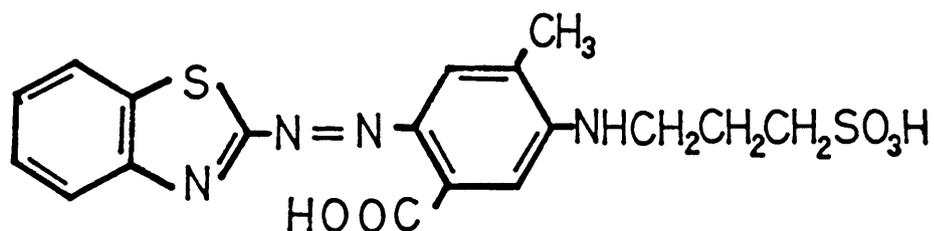
通常の方法あるいはニトロシル硫酸法で2-アミノベンゾチアゾールをジアゾ化し、3-スルホメチルアミノ-4-メチル安息香酸とカップリングさせることにより青紫色タール状物質として得られたが、精製が困難であった。

2.4.7. 2-(2-ベンゾチアゾリルアゾ)-4-(スルホメチルアミノ)
安息香酸



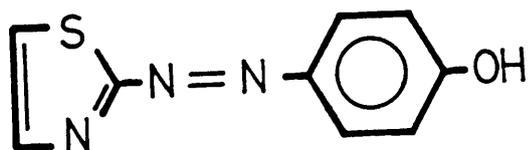
2.4.6.と同様な方法で得られるが、収量が少ない。この試薬は塩酸酸性下で紫色、弱酸性あるいは中性で橙色を呈し、銅(II)、ニッケル(II)とそれぞれ青色、紫色錯体を形成する。

2.4.8. 2-(2-ベンゾチアゾリルアゾ)-4-メチル-5-(スルホプロピルアミノ)安息香酸



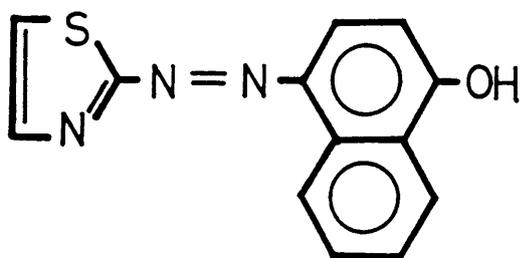
2-アミノベンゾチアゾールをニトロシル硫酸法でジアゾ化を行ない、カップリグは3-スルホプロピルアミノ-4-メチル安息香酸溶液のpHを8付近に保ちながらジアゾニウム塩を徐々に加えて行なった。カップリング後、この溶液を塩酸酸性にすることにより赤色沈殿を得た。この水溶性赤色試薬は種々の金属イオンと錯形成し、次のように呈色する。銅(II)：青緑色、ニッケル(II)：青紫色、コバルト(II)：紫色、コバルト(III)：緑色 又、この試薬は強酸性で紫色、弱酸性あるいは中性で赤橙色となる。

2.4.9. 4-(2-チアゾリルアゾ)フェノール



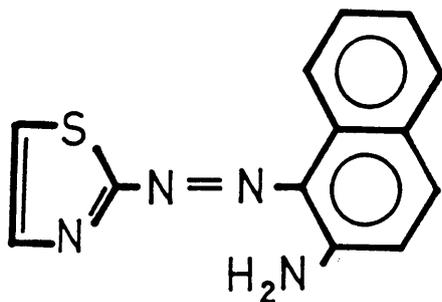
通常の方法でジアゾ化、カップリングを行なって得た。試薬はpH1および5で共に黄色を呈し、pH5で銅(II)と赤橙色、パラジウム(II)と赤褐色沈殿、水銀(II)と赤橙色を呈する。

2.4.10. 4-(2-チアゾリルアゾ)-1-ナフトール



通常の方法でジアゾ化、カップリングを行なって得た。試薬はpH1および5で共に赤色を呈し、pH5で銅(II)と紫色、パラジウム(II)と青紫色、水銀(II)と紫色を呈する。

2.4.11. 1-(2-チアゾリルアゾ)-2-アミノナフタレン



通常の方法でジアゾ化、カップリングを行なって得た。試薬はpH3で赤色pH5で橙

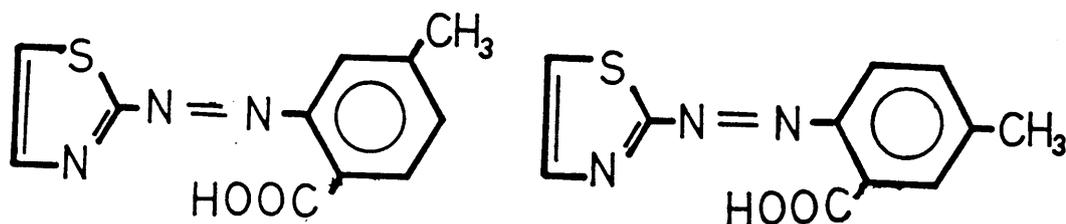
色を呈した。pH5で銅(II)と紫色、パラジウム(II)と褐色を呈し、水銀(II)とは呈色を示さなかった。

なお、2.4.9., 2.4.10., 2.4.11., の試薬は次の金属イオンと呈色を示さない。

亜鉛(II)、ニッケル(II)、鉄(III)、鉛(II)、コバルト(II)、マンガン(II)

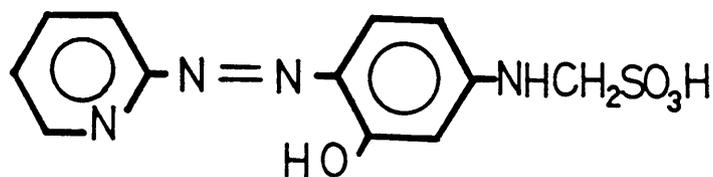
2.4.12. 2-(2-チアゾリルアゾ)-4-メチル安息香酸および

2-(2-チアゾリルアゾ)-5-メチル安息香酸



2-ジアゾチアゾールとp-メチル安息香酸、m-メチル安息香酸とより合成したが、先のTAMSMBに比較して感度が低いので詳細については検討しなかった。

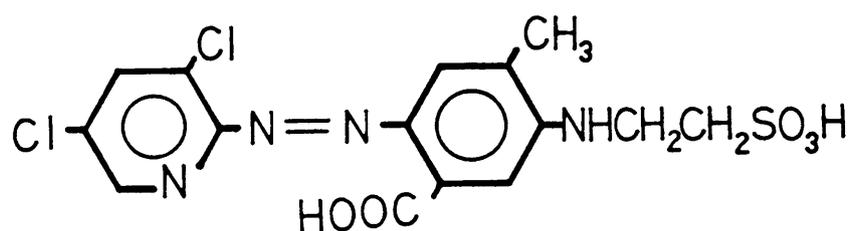
2.4.13. 2-(2-ピリジルアゾ)-5-(スルホメチルアミノ)フェノール



2-アミノピリジンを通常の方法でジアゾ化し、2-ジアゾピリジンと3-スルホメル
ルアミノフェノールのエタノール溶液にCO₂ガスを通すことにより合成した。この試薬
の水溶性はそれほど大きくない。50%エタノール溶液で金属イオンとの呈色を試みた。
試薬の色は酸性側で黄色、アルカリ性側で赤色を呈した。pH5での金属イオンとの呈色
は以下の通りである。

金属イオン	色	金属イオン	色
Cu(II)	紫	Zn(II)	赤
Co(III)	紫	Bi(III)	紫 (ppt)
Fe(III)	赤	U(VI)	紫
Hg(II)	紫	Th(IV)	赤
Ni(II)	紫		

2.4.14. 2-(3,5-ジクロロ-2-ピリジルアゾ)-4-メチル-5-(スルホエチルアミノ)安息香酸



3,5-ジクロロ-2-ジアゾピリジンと3-スルホエチルアミノ-4-メチル安息香の50mlメタノール溶液にCO₂ガスを1.5時間通気することにより、カップリングし、赤色沈殿を25mg得た。この試薬は塩酸酸性で紫色、pH5以上で橙色を呈した。以下の金属イオンとの呈色を試みた。

金属イオン	色	金属イオン	色
Cu(II)	青	Zn(II)	紫
Ni(II)	紫	Ga(III)	紫
Co(II)	紫 (アスコルビン酸で徐々に分解)	Pd(II)	緑
Co(III)	青緑(KIO ₄ 転下)	Mn(II)	赤

第2章 引用文献

- 1) Griess, Ber., 5(1873)1038
- 2) 玉奥克巳、鶴見好雄、谷本淑郎、土肥忠博、伊藤喜代文、分析化学,
14(1965)861
- 3) T.Ohta, Y.Mori, S.Takagi, J. Pharm. Soc. Jpn., 78(1958)697

第3章 2 - (2 - チアゾリルアゾ) 安息

香酸誘導体に関する研究

3.1 試薬と装置

TASMB溶液： 5×10^{-4} M水溶液

TAMB溶液： 5×10^{-4} M 50% (v/v) ジオキサン溶液

TASMP溶液： 5×10^{-4} M 水溶液

TAMSMB溶液： 5×10^{-3} M 水溶液

5-Br-TAMSMB： 5×10^{-4} M 水溶液

N-Et-TASMB溶液： 5×10^{-4} M 水溶液

3, 5-diCl-PAMSPB溶液： 5×10^{-4} M 水溶液

TAMSPB溶液： 5×10^{-4} M 水溶液

TAMSEB溶液： 5×10^{-4} M 水溶液

4-(5-クロロ-2-ピリジルアゾ)-1, 3-ジアミノベンゼン(5-Cl-PADAB)溶液：Merk, Darmstadt 製試薬を用い、 10^{-3} Mエタノール溶液とした。

5-(3, 5-ジブromo-2-ピリジルアゾ)-2, 4-ジアミノトルエン(3, 5-diBr-PADAT)溶液： 10^{-3} Mエタノール溶液。試薬は文献¹⁾の方法に従って合成した。

2-(5-ブromo-2-ピリジルアゾ)-5-ジエチルアミノフェノール(5-Br-PADAP)溶液： 10^{-3} Mエタノール溶液。試薬はMerk, Darmstadt製を用いた。

2-(2-ピリジルアゾ)-4-メチル-5-エチルアミノフェノール(EAPAC)溶液： 10^{-3} M エタノール溶液。試薬は2-(2-ピリジルアゾ)-5-メトキシフェノール²⁾と同様な方法で合成した。

2-(3, 5-ジブromo-2-ピリジルアゾ)-5-ジメチルアミノ安息香酸(3, 5-diBr-PAMB)溶液： 10^{-3} M メタノール溶液。試薬は文献³⁾の方法を改良することにより合成した。

2-ニトロソ-5-ジメチルアミノフェノール(ニトロソ-DMAP)溶液: 0.1 M 塩酸溶液中にニトロソ-DMAP塩酸塩を溶かし、 10^{-3} M溶液とした。試薬は文献^{4) 5)}の方法に従って合成した。

EDTA溶液: ドータイトEDTA $\cdot 2\text{Na}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ を用いて 10^{-2} M溶液とし、亜鉛標準溶液で力価を定めた。

過ヨウ素酸カリウム溶液: 0.4% (w/v) 水溶液

ジオキサン: 試薬の酸解離定数及び錯体の生成定数の決定には以下に述べる方法で精製したジオキサンを用い、その他の測定では市販の試薬特級をそのまま用いた。市販のジオキサン2ℓに濃塩酸27mℓと水200mℓを加え、アセトアルデヒドを追い出すために窒素を通じながら還流冷却器を付けて12時間煮沸し、冷後よく振り混ぜながら粒状KOHを、それが溶けなくなるまで加えた。静置して上層のジオキサンを傾流して別の器に取り付着している水分を十分に除くために、新しく粒状KOHを加えて乾燥した。ジオキサンを別のフラスコに移し金属ナトリウムを加えて、10~12時間加熱還流してから蒸留した。蒸留して得たジオキサンは冷蔵庫中に保存した。

ニッケル溶液: 特級硝酸ニッケルを水に溶かして 10^{-2} M溶液とし、ジメチルグリオキシム重量法で正確な濃度を定めた。あるいはスポンジ状ニッケル(純度99.99%)を硝酸に溶かし、水でうすめて 10^{-2} M溶液とした。

コバルト溶液: 特級硝酸コバルトを8M塩酸に溶かし、含まれている微量ニッケルをトリ-n-オクチルアミン-キシレン溶液で抽出後、1M塩酸中にコバルトのみを逆抽出した。⁶⁾ 溶液中のコバルトの濃度は少量のフェナントロリンとアスコルビン酸を添加し、キシレノールオレンジを指示薬として 10^{-2} M EDTA標準溶液で滴定して定めた。

銅 溶液: 金属銅(純度99.99%)を硝酸に溶かし、 10^{-2} M溶液とした。その他の試薬は市販の特級試薬をそのまま用い、金属の溶液は特級の硝酸塩、塩酸塩あるいは硫酸塩より調製した。

pH緩衝液: pH<2は適当な濃度の塩酸、pH2.0~3.5は0.2M-モノクロロ酢酸-モノクロロ酢酸ナトリウム溶液、pH4~7.0は0.2M酢酸-酢酸ナトリウム溶液、pH8~10は0.1M-ホウ酸-水酸化ナトリウム溶液あるいは1.25M-アンモニア-塩化アンモニウム溶液、pH10.5~11.5は1.25

Mアンモニア溶液を用いて調節した。

イオン強度の調節には試薬特級硝酸カリウムを再結晶し、1 M硝酸カリウム溶液として用いた。

用いた水は硬質ガラス器から再蒸留した。

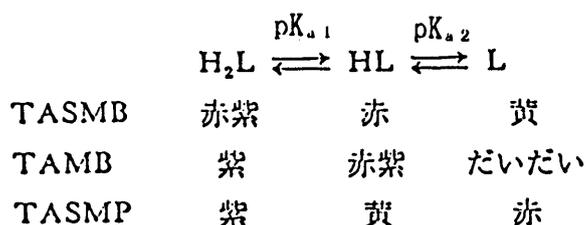
装置はユニオン技研製（現在大塚電子）分光光度計SM-401型、平間理化研究所製自動滴定装置、日立-堀場pHメーターF5型あるいはM5型を使用した。

3.2 試薬の酸解離定数

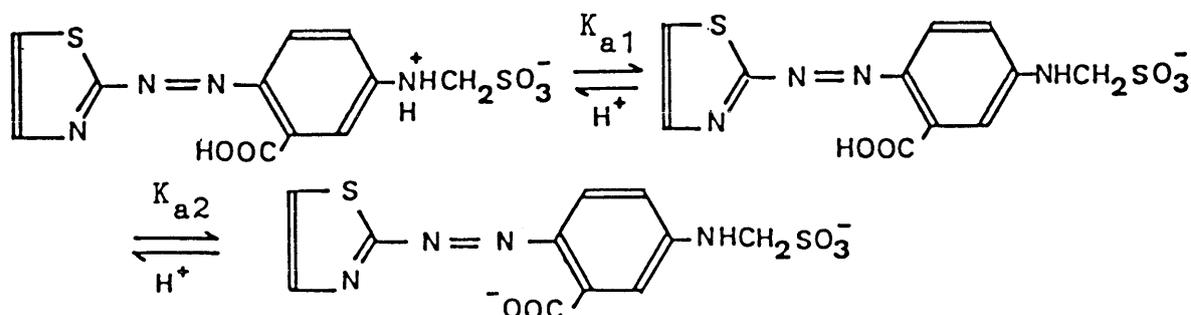
3.2.1 TASMB、TAMB及びTASMPの酸解離定数

TASMB及びTAMBの吸収曲線をそれぞれFig. 2及びFig. 3に示す。

いずれの場合もpHが低くなるに従って極大吸収波長が長波長側へシフトし、吸光度も増大する。スルホン基のプロトン及びチアゾール環の窒素原子に付加したプロトンの解離は強酸性で起こると考えられるので、これらの解離した種を H_2L とすると、pHによる色の变化は次のようになる。（以下電荷は省略する。）



TASMB (H_2L) の酸解離はかなり酸性側で起こり、しかも pK_{a1} と pK_{a2} は接近している。 pK_{a1} に相当するプロトンの解離によって吸収曲線は大きく変化するが、 pK_{a2} に相当するプロトンの解離ではあまり大きな変化は見られなかった。従って、TASMBの解離は次のように進行すると考えられる。



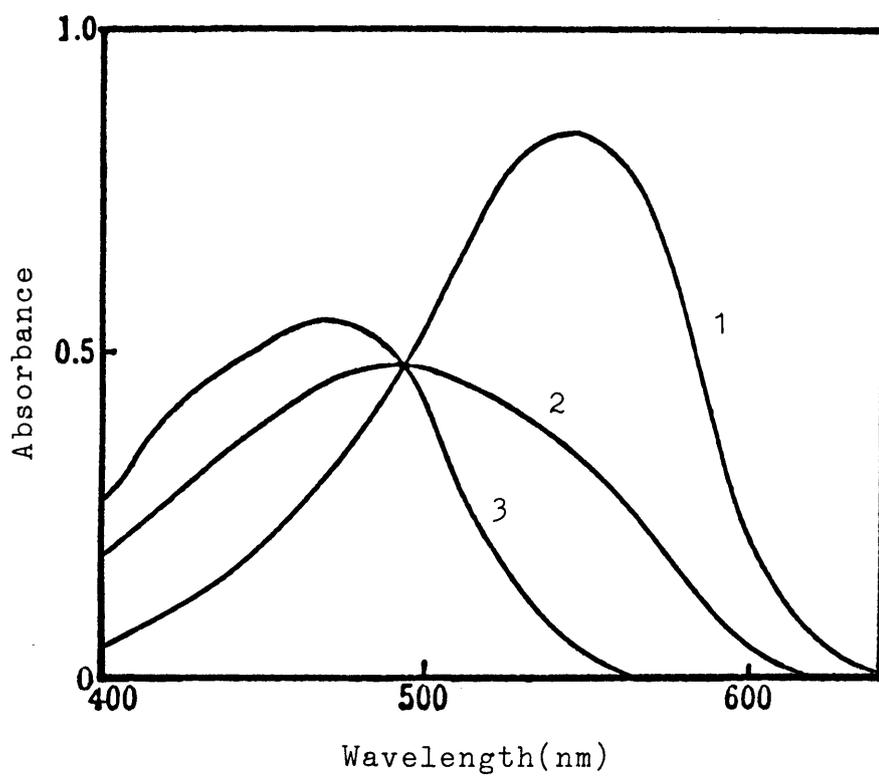


Fig.2 Absorption spectra of TASMB
 $C_L = 1.99 \times 10^{-5} M$, (1): in 1.2M HCl; (2): pH 1.65
 (3): pH 4.5 ~ 11.0

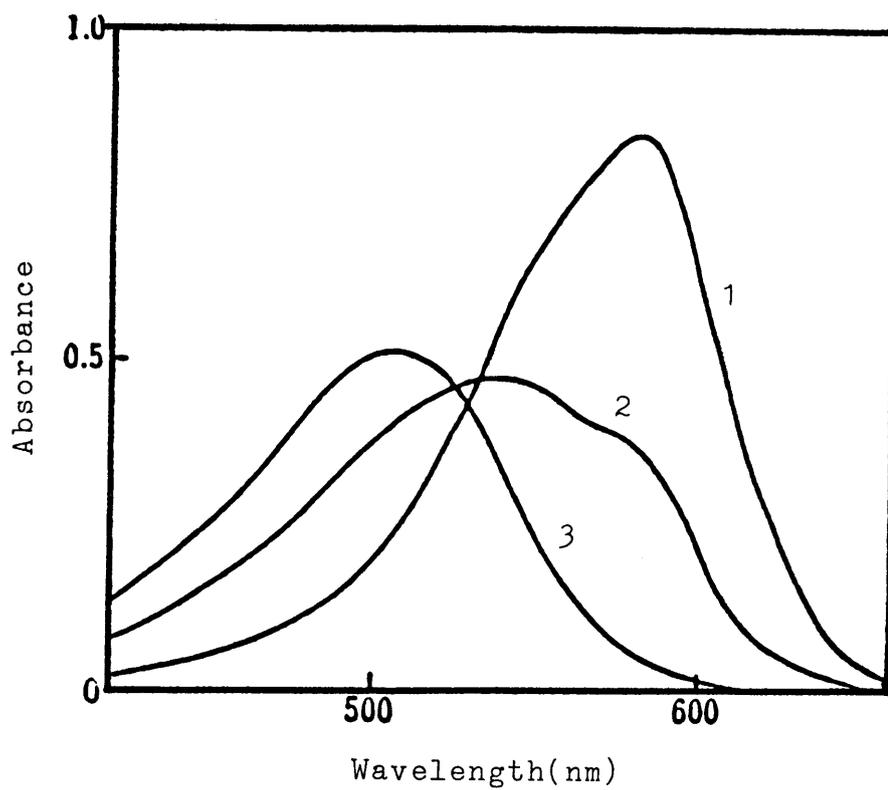


Fig.3 Absorption spectra of TAMB
 $C_L = 1.42 \times 10^{-5} \text{M}$ (2% (v/v) dioxane); (1): in 1.2M HCl
 (2): pH 2.73; (3): pH 4.5~11.0.

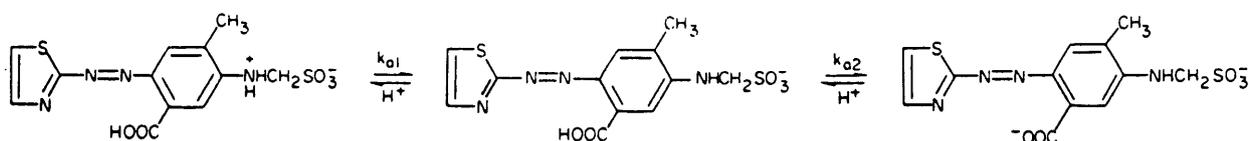
1. $9.9 \times 10^{-5} \text{ M}$ TAMSMB水溶液及び $1.42 \times 10^{-5} \text{ M}$ TAMMB 2% (v/v) ジオキサン溶液のpHを1~5の範囲で変化させて、TAMSMBは540 nmで、TAMMBは578 nmで吸光度を測定し計算によって pK_{a1} 及び pK_{a2} を求めた。

TASMPは $2.25 \times 10^{-5} \text{ M}$ 溶液の528 nmにおける吸光度を種々のpHで測定し、Hildebrand-Reilleyの方法⁷⁾で pK_{a1} 及び pK_{a2} を求めた。TASMPの場合はスルホメチルアミノ基に付加したプロトンが酸性側で解離して吸収曲線は短波長側へシフトし、更にpH8付近でフェノール性水酸基のプロトンが解離して再び吸収曲線は長波長側へシフトする。

求めた酸解離定数をTable 3にまとめて示す。

3.2.2 TAMSMB、5-Br-TAMSMB、TAMSEB及びTAMSPBの酸解離定数

TAMSMB及び5-Br-TAMSMBの吸収曲線をそれぞれFig. 4及びFig. 5に示す。TAMSMB溶液はpH0から2の間で色は大きく変化し、一方pH2から4の間での色の变化は小さい。すなわち、酸解離は次のように進行すると考えられる。



ここで、 $K_{a1} = [HL^-][H^+] / [H_2L]$ 、 $K_{a2} = [L^{2-}][H^+] / [HL^-]$ である。TAMSMB溶液の550 nmにおける吸光度を種々のpHで、イオン強度0.1 (KNO_3)、温度 25°C で測定した。酸解離定数 K_{a1} 及び K_{a2} をMcConnell-Davidsonの方法⁸⁾で算出し、更に電子計算機を用いて再計算することによって求めた。5-Br-TAMSMBの酸解離定数も同様な方法で決定した。

TAMSPB及びTAMSEBの吸収曲線をTAMSMBの吸収曲線と一緒にFig. 6に示した。TAMSPB及びTAMSEB溶液の色の变化はTAMSMBと同様pH0から2の間で大きく変化する。一方、pH2から4の間での色の变化は小さく、酸解離はTAMSMBと同様であると考えられる。

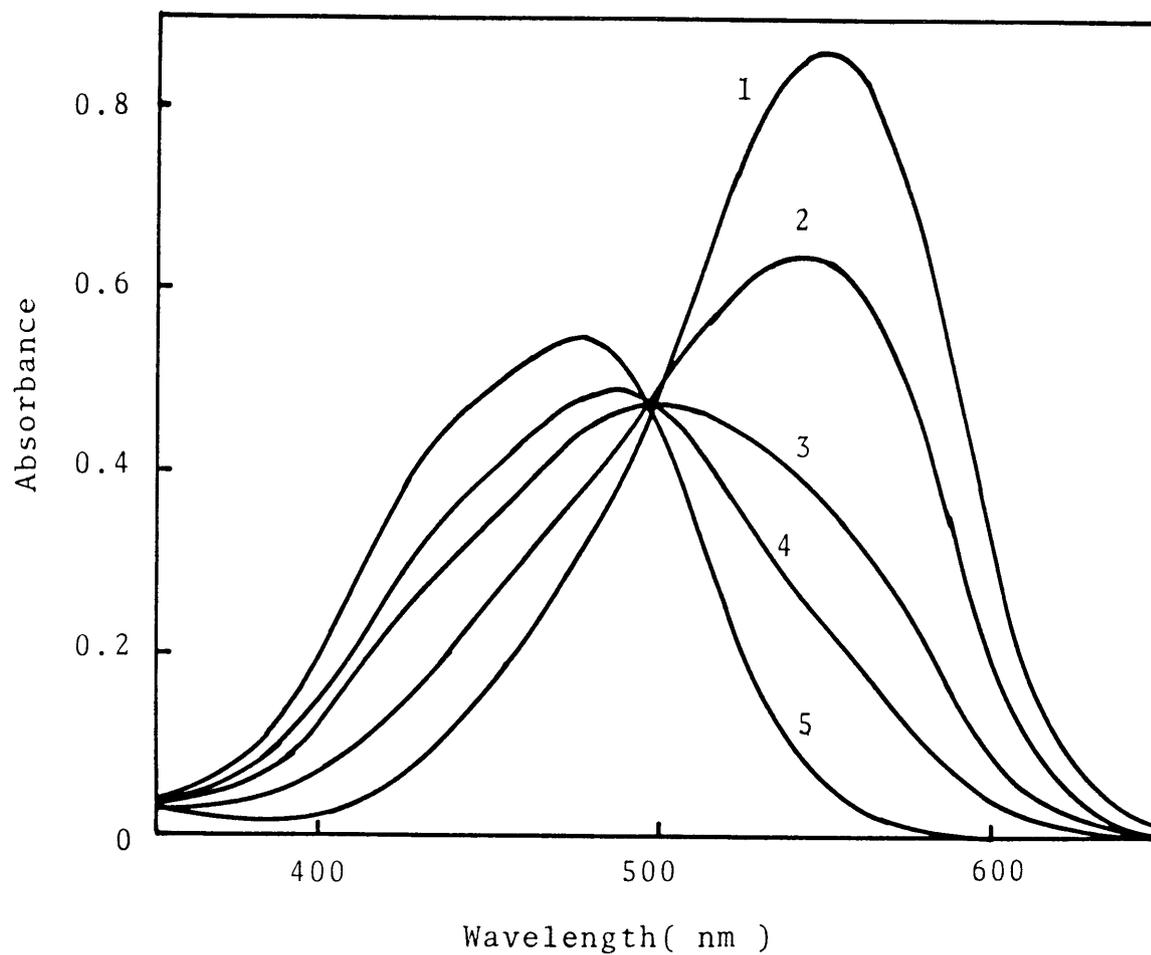


Fig.4 Absorption spectra of TAMSMB($1.90 \times 10^{-5} \text{ M}$):(1) in 1.2M HCl;
 (2) in 0.12M HCl;(3) pH 1.68;(4) pH 2.30;(5) pH 4.5~11.0

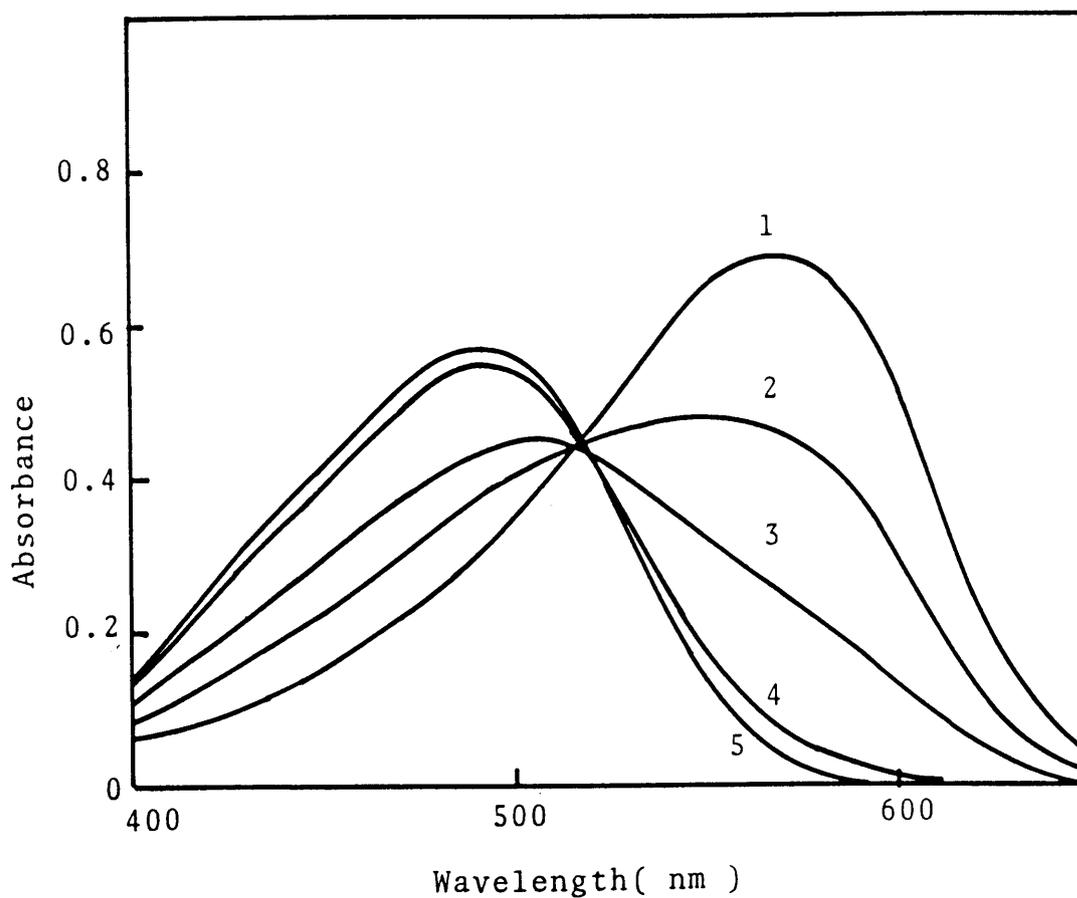


Fig.5 Absorption spectra of 5-Br-TAMSMB($2.02 \times 10^{-5} \text{ M}$):(1) in 2.4M HCl;
 (2) in 1.2M HCl;(3) in 0.48M HCl;(4) pH 2.92;(5) pH 5.3~10.5

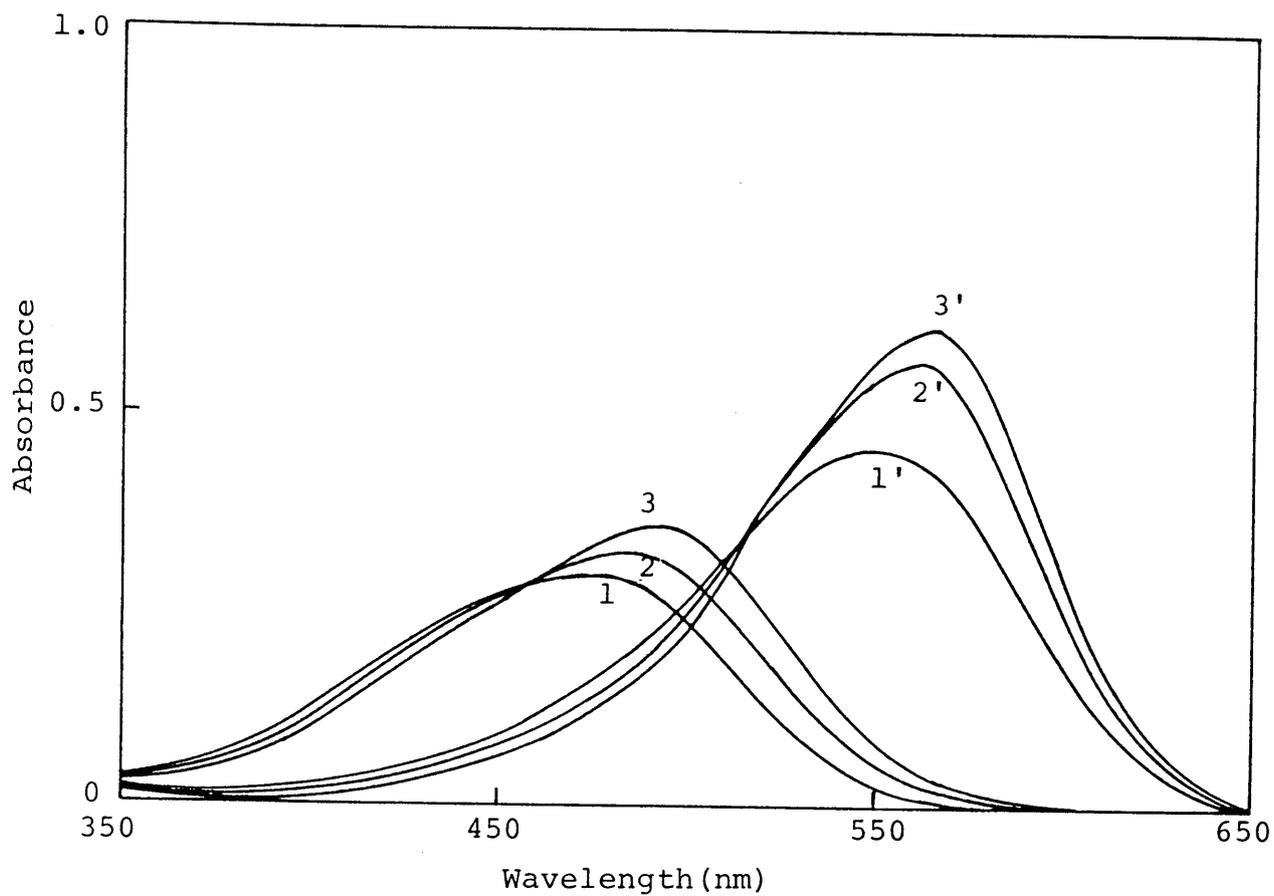


Fig. 6 Absorption spectra of the reagents

$C_L = 1.00 \times 10^{-5} M$; (1) TAM SMB, (2) TAM SEB, (3) TAM SPB; 1', 2', 3':
0.5 - 2 M HCl; 1, 2, 3, : pH 5.3 - 10

又、TAMSMB、TAMSEB、TAMSPBとスルホアルキルアミノ基のアルキル基がメチル、エチル、プロピルと長くなるに従い、試薬の極大吸収波長は長波長側にシフトし、モル吸光係数もアルキル基が長くなるに従って大きくなっている。(Table 2)

Table 2

	R	λ_{max} (nm) of L^{2-}
TAMSPB	$CH_2CH_2CH_2$	490
TAMSEB	CH_2CH_2	484
TAMSMB	CH_3	476

TAMSPB及びTAMSEBの酸解離定数 K_{a1} 及び K_{a2} をTable 3に示す。Table 3にみられるように pK_{a2} ($-COOH$ 基のプロトン解離)の値はほぼ同じであるが、酸解離によって大きく色が変わるところの pK_{a1} (アミノ基に付加したプロトンの解離)の値はTAMSPB > TAMSEB > TAMSMBの順に大きくなっている。

Table 3 Acidity constants of the reagents ($\mu=0.1, 25^\circ C$)

Reagent	pK_{a1}	pK_{a2}	ref.No.
TAMB*	1.9	3.6	9
TASMB	1.3	3.3	9
N-Et-TASMB	1.4	3.3	11
TAMSMB	1.3	3.4	10
5-Br-TAMSMB	<0.5	3.1	10
TAMSEB	1.7	3.3	12
TAMSPB	1.9	3.5	12
TASMP	2.5	8.3	9
3,5-diCl-PAMSPB	<0.5	4.1	11

* 2%(v/v)dioxane solution

ピリジルアゾ安息香酸誘導体である3,5-diCl-PAMSPBの酸解離定数を同様の方法で決定した。比較のためTable 3に示した。

3. 3 金属イオンとの反応及び錯体の生成定数

3.3.1 T A S M B 及び T A M B の金属イオンとの反応

T A S M B 及び T A M B は Table 4 に示す金属イオンとのみかなり低い p H から反応する。

Table 4 Reaction of metal ions with T A S M B and T A M B ($C_L=1.7 \times 10^{-5} M$, $C_M=4.0 \times 10^{-4} M$)

Ligand(L)	Metal(M)	Color of chelate***	λ_{max} (nm)	$\epsilon \times 10^{-4}$ (l mol ⁻¹ cm ⁻¹)
T A S M B	Cu(II)	b-v	582	4.9
	Ni(II)	p	550	4.3
	Co(II)*	p	498	2.1
	Co(III)**	b	650	4.7
	Pd(II)	b-g	655	4.1
T A M B	Cu(II)	b	632	5.3
	Ni(II)	b-v	606	5.2
	Co(II)*	v	602	3.5
	Co(III)**	b	659	5.4
	Fe(II)*	v	566	3.2
	Fe(III)	p	540	2.6
	Pd(II)	g(ppt)		
	Zn(II)	v	slightly	

* In the presence of L-ascorbic acid; ** In the presence of KIO_4 {In the absence of KIO_4 the spectra of Co(II) chelates gradually changed to those of Co(III) chelates}; *** b:blue, v:violet, p:purple, g:green

TASMBは鉄(II)、(III)及び亜鉛(II)とはほとんど反応しなかった。TASMB及びTAMBのニッケルキレートの吸収曲線をFig. 7に示す。TASMPは他のチアゾリルアゾフェノール類と同様多くの金属イオンと反応する。TASMBはTASMPのカップリング成分のフェノール性-OHを-COOHに変えたものであり、配位基-OHを-COOHに変えることにより選択性が著しく向上することがわかる。フェノール性-OHあるいは-COOHを配位基とする錯体の一般的構造を下記に示す。

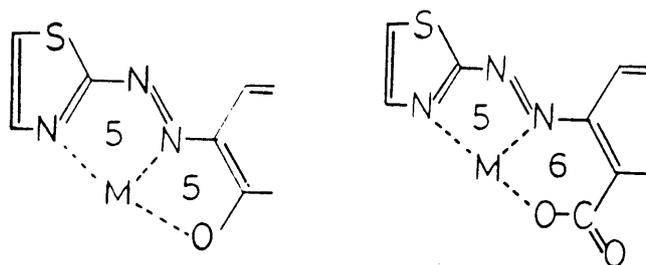


Fig.8 General structure of metal complex with -OH or -COOH

Fig. 8からわかるようにフェノール性水酸基の場合は金属イオンと5員環キレートを形成するが、カルボキシル基は6員環キレートを形成し、金属イオンとの結合力が弱くなるものと考えられる。

連続変化法及びモル比法によりTASMB及びTAMBのニッケルキレートの組成を決定した。TASMBの連続変化法の結果をFig. 9に示す。TASMB及びTAMBは試薬がかなり過剰に存在してもニッケルと主として1:1キレートを生成する。

フェノール性水酸基をもつTASMPの場合は2-(2-チアゾリルアゾ)-4-メチルフェノール(TAC)などと同様主としてニッケルと試薬の比が1:2のキレートが生成した。

ニッケルキレートの生成定数{式(1)}を吸光光度法で決定した。

$$K_{NiL} = \frac{[NiL]}{[Ni][L]} \quad (1)$$

式(1)の両辺の対数をとると式(2)が得られる。

$$\log K_{NiL} = \log \frac{[NiL]}{[L]} - \log [Ni] \quad (2)$$

1. $6 \times 10^{-5}M$ TASMB又はTAMBと($8.6 \times 10^{-6} \sim 4.0 \times 10^{-5}M$)ニ

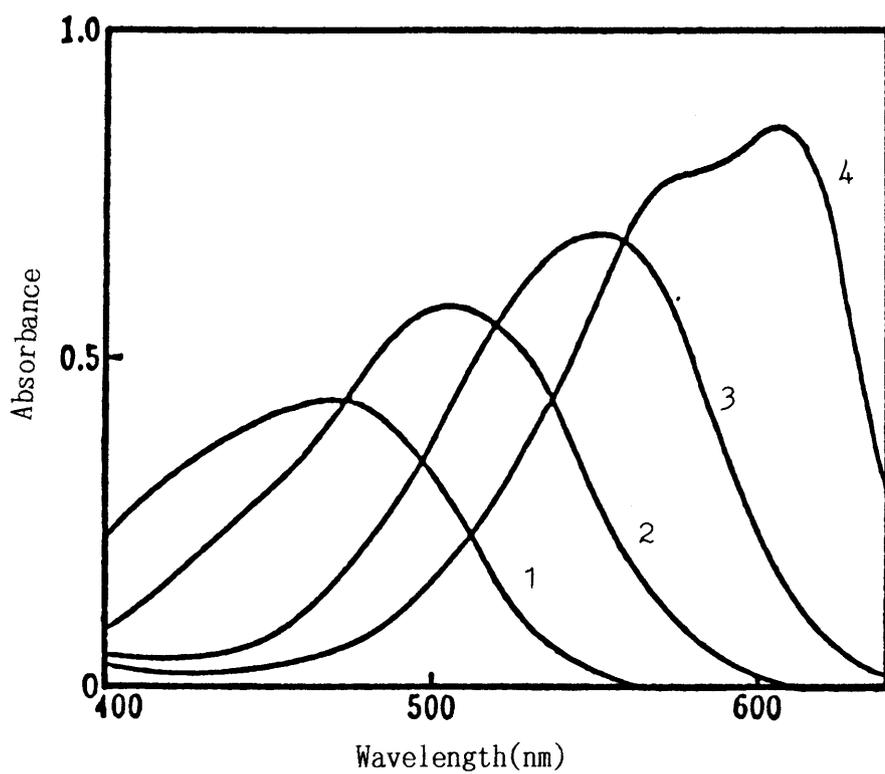


Fig.7 Absorption spectra of Ni chelates and reagents
 $C_L=1.61 \times 10^{-5} M$; $C_M=4.0 \times 10^{-4} M$; pH:5; (1):TASMB;
 (2):TAMB; (3):Ni(TASMB); (4):Ni(TAMB)

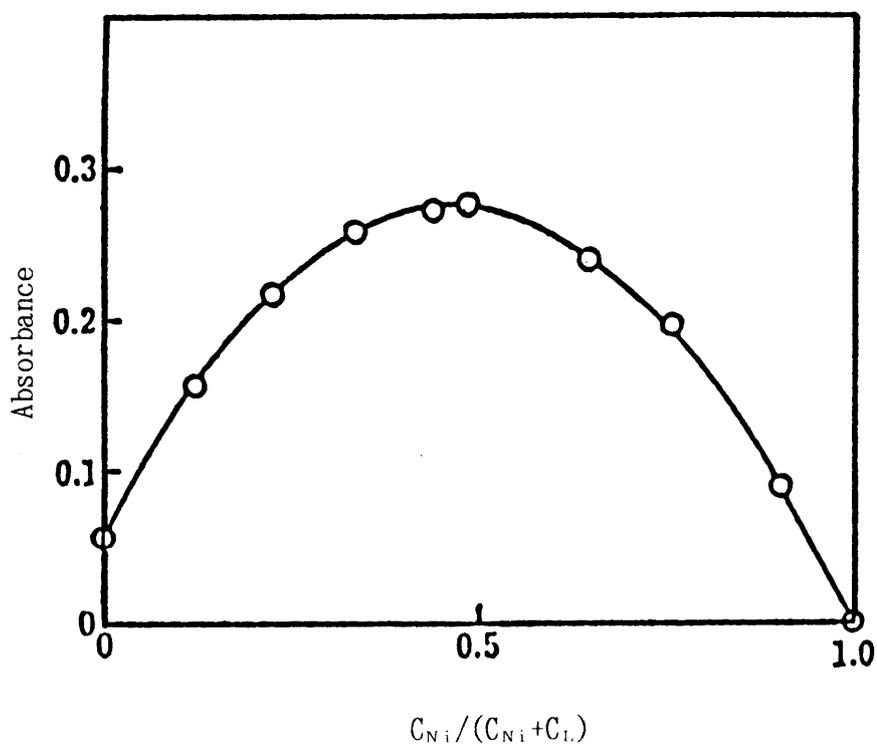


Fig.9 Continuous variation curve of Ni(TASMB) chelate

$$C_{Ni} + C_L = 3.11 \times 10^{-5} M$$

ツケルを含む溶液のpHを5に、イオン強度を0.1に調節し、TASMBの場合は550nmで、TAMBの場合は606nmで吸光度を測定した。pH5で試薬は完全に解離しLとして存在している。又、ニッケルキレートの生成定数があまり大きくないため実験条件では反応は定量的に進行していないから、測定した吸光度から[NiL]を求め[L]と[Ni]を計算した。 $\log [NiL] / [L]$ を $-\log [Ni]$ に対してプロットすると勾配1の直線が得られた。 $-\log [Ni]$ 軸との交点から $\log K_{NiL}$ を求めた。結果をTable 5に示す。

Table 5 Formation constants of Ni-, Cu-chelates(25°C, $\mu=0.1$)

	TASMB	TAMB*	TAC**
$\log K_{NiL}$	4.8	5.5	8.00
$\log K_{NiL_2}$			7.20
$\log K_{CuL}$	6.7	7.6	9.45

* 2%(v/v) dioxane solution; ** 20%(v/v) dioxane solution

TASMB及びTAMBのニッケルキレート生成定数はTACの $\log K_{NiL}=8.00$ に比べてかなり小さい。

なお、比較の為にニトリロ三酢酸による置換反応を利用して求めたTASMB及びTAMBの銅キレートの生成定数も併せて示した。

3.3.2 TAMSMB及び5-Br-TAMSMBと金属イオンとの反応

TAMSMBはCo(II)、(III)、Cu(II)、Ni(II)、Fe(II)、Pd(II)と反応してそれぞれ紫、青、紫、紫、紫、緑色を呈する。Mn(II)は過ヨウ素酸カリウム存在下で反応して褐色を呈する。TAMSMBキレートの吸収曲線をFig. 10に示す。

又、TAMSMB-ニッケルキレートの組成をモル比法及び連続変化法で調べた。連続変化法の結果をFig. 11に示す。フェノール誘導体はニッケルと試薬の比が1:2の錯体を生成するが、安息香酸誘導体は試薬濃度があまり高くないところでは主として1:1錯体を生成することがわかった。

又、5-Br-TAMSMBキレートの吸収曲線をFig. 12に示した。

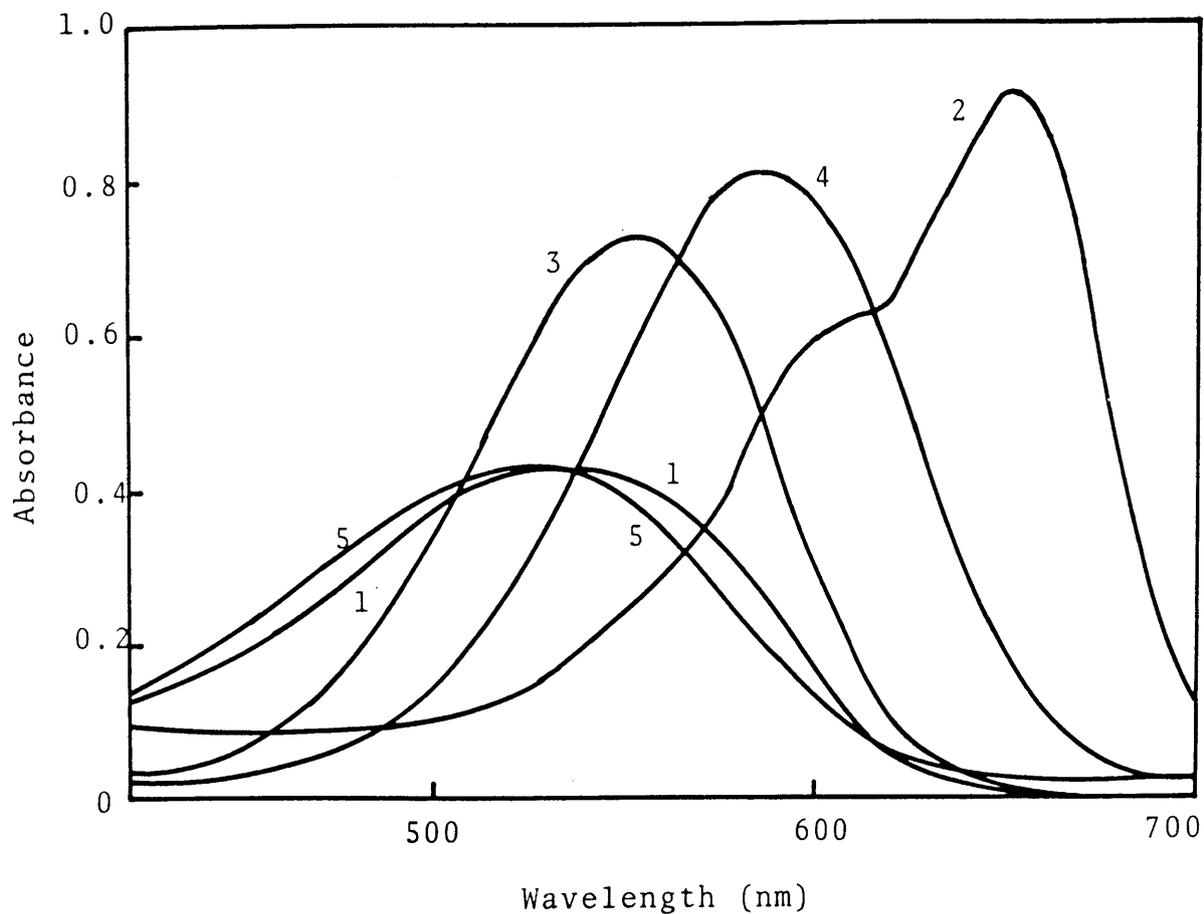


Fig.10. Absorption spectra of TAMSMB complexes in the presence of excess metal ions (TAMSMB, $1.61 \times 10^{-5} \text{M}$, pH 5.0): (1) Co(II), $4.17 \times 10^{-4} \text{M}$, in the presence of ascorbic acid; (2) Co(III), $4.17 \times 10^{-4} \text{M}$, in the presence of KIO_4 ; (3) Ni(II), $4.25 \times 10^{-4} \text{M}$; (4) Cu(II), $4.26 \times 10^{-4} \text{M}$; (5) Fe(II), $3.70 \times 10^{-4} \text{M}$, in the presence of ascorbic acid

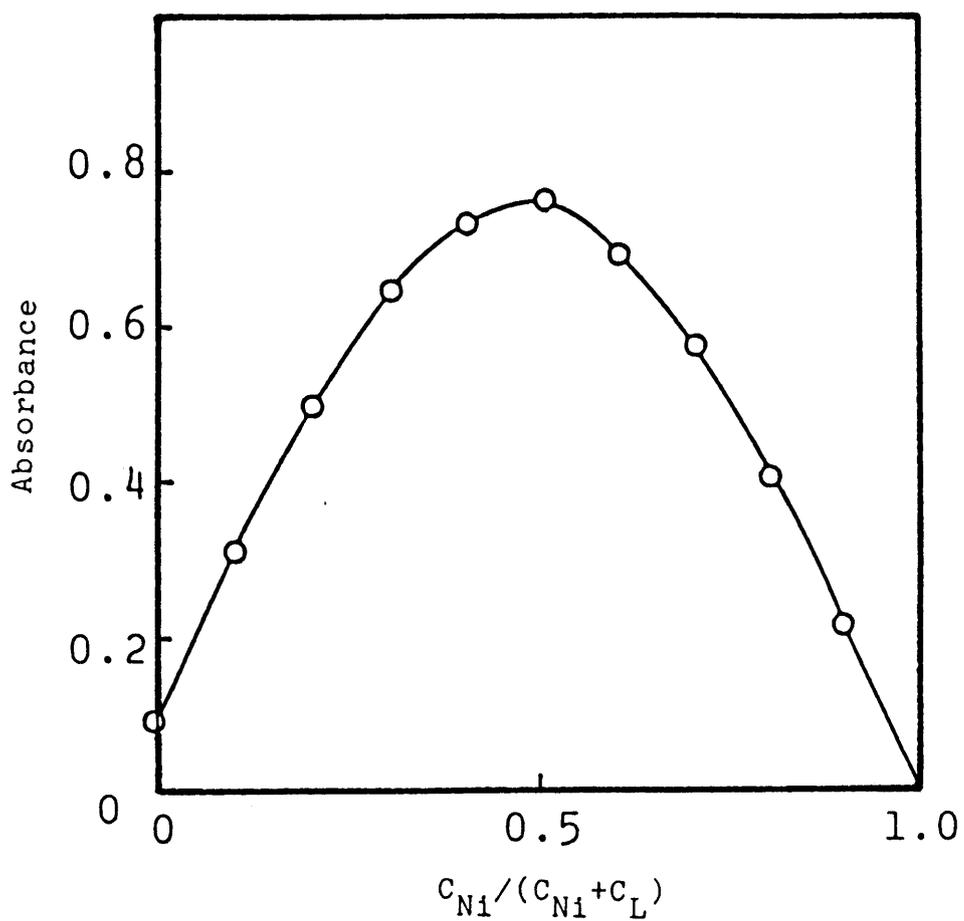


Fig. 11 Composition of Ni-TAMSMB chelate

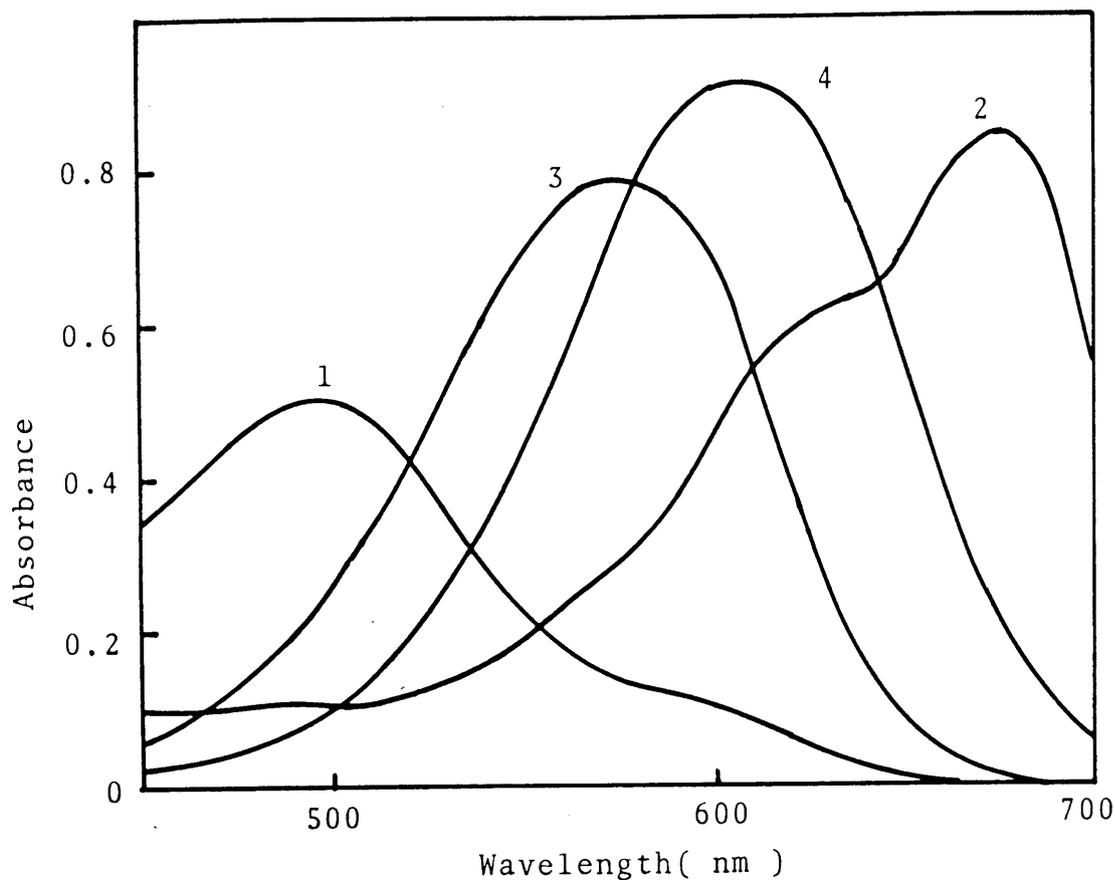


Fig. 12

Absorption spectra of 5-Br-TAMSMB complexes in the presence of excess metal ions (5-Br-TAMSMB, $2.02 \times 10^{-5} \text{M}$, pH 5.0):
 (1) Co(II); $4.01 \times 10^{-4} \text{M}$, in the presence of ascorbic acid;
 (2) Co(III), $4.01 \times 10^{-4} \text{M}$, in the presence of KIO_4 ;
 (3) Ni(II), $1.29 \times 10^{-4} \text{M}$; (4) Cu(II), $8.00 \times 10^{-4} \text{M}$

3.3.3 TAMSPB及びTAMSEBと金属イオンとの反応とTAMSMBとの比較

TAMSPB及びTAMSEBもTAMSMBと同様な金属イオンとのみ反応する。モル比法及び連続変化法で求めたTAMSPB及びTAMSEBの銅、ニッケルキレートの組成はTAMSMBと同様主として1 : 1キレートであった。試薬が大過剰に存在する場合には、ニッケルキレートは1 : 2キレートMR₂も生成する。Fig. 13にTAMSPBキレートの吸収曲線を示す。

又、TAMSPB、TAMSEBキレートの極大吸収波長、モル吸光係数をTAMSMBキレートの極大吸収波長、モル吸光係数と共にTable 6 に示す。

Table 6 Absorption Maxima and Molar Absorptivities of Metal Complexes at pH 5.5

Reagent	Cu(II)	Ni(II)	Co(II)	Co(III)
TAMSMB	586 5.0	554 4.5	545 3.5	655 11.3
TAMSEB	602 5.5	566 5.0	558 4.3	654 12.3
TAMSPB	610 5.8	578 5.3	566 4.4	655 12.4

Upper line: λ_{\max} (nm); lower line: $\epsilon \times 10^{-4}$ (l mol⁻¹ cm⁻¹)

アゾのp位のアルキルアミノ基がメチルからエチル基になるとモル吸光係数がそれぞれ約10%増加したがプロピル基になってもほとんど増加しなかった。

TAMSPB及びTAMSEBのプロトン付加定数などと銅(II)及びニッケル(II)キレートの生成定数を3.3.1.で記した方法と同様な方法で吸光光度法により求めた。求めた生成定数をTAMSMBの値と共にTable 7 に示す。

Table 7 Proton additional constants of the reagents and the formation constants of Cu, Ni complexes ($\mu=0.1M$ KNO₃, 25°C)

	$\log K_{H_2L}^H$	$\log K_{HL}^H$	$\log K_{CuL}^L$	$\log K_{NiL}^L$	$\log K_{NiL_2}^L$
TAMSMB	1.3	3.4	7.36	5.19	3.86
TAMSEB	1.7	3.3	7.91	5.38	4.15
TAMSPB	1.9	3.5	8.19	5.62	4.44

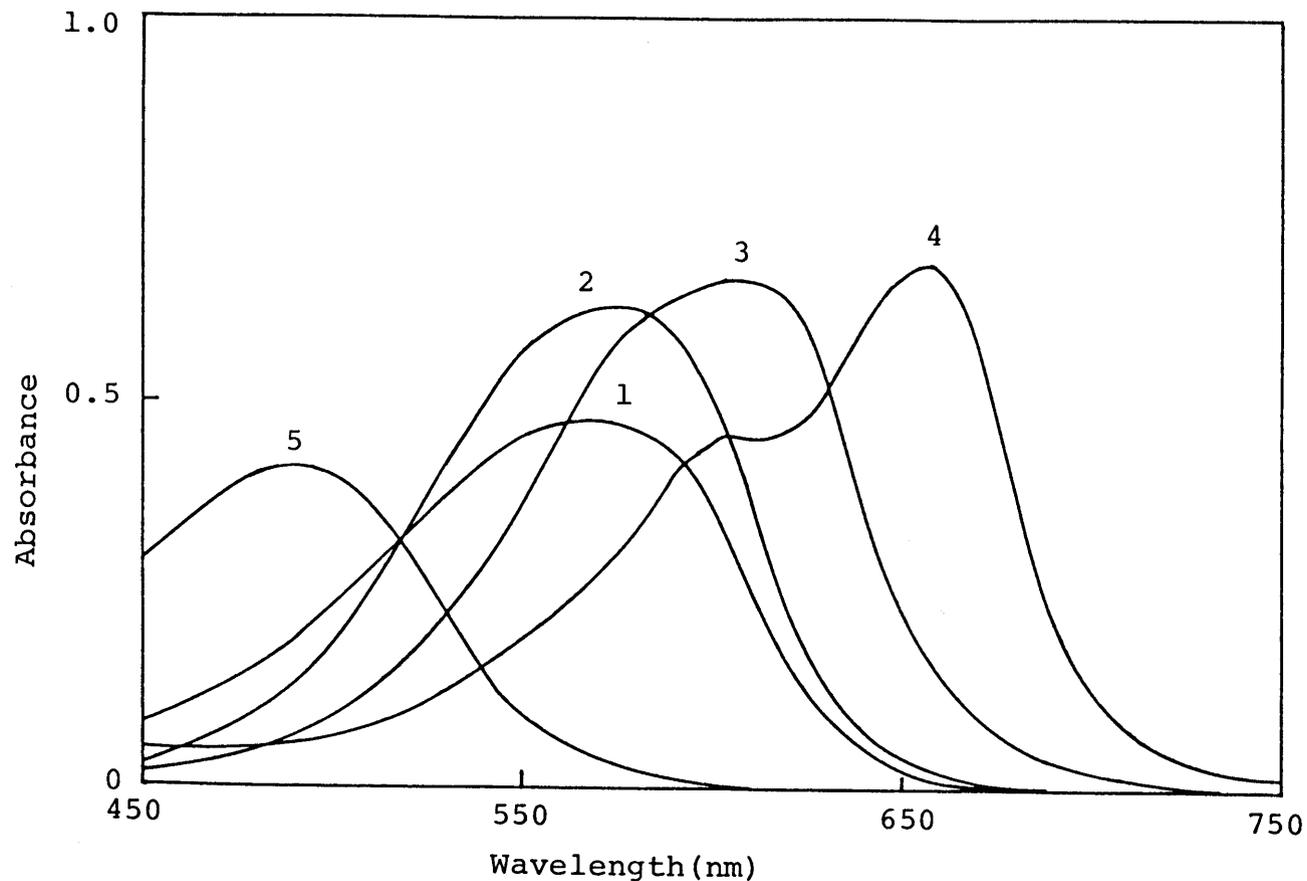


Fig.13 Absorption spectra of TAMSPB chelates at pH 5.5

TAMSPB: $1.17 \times 10^{-5} \text{M}$, (1) Co(II), $5.75 \times 10^{-4} \text{M}$ (in the presence of ascorbic acid); (2) Ni(II), $6.20 \times 10^{-4} \text{M}$; (3) Cu(II), $2.22 \times 10^{-4} \text{M}$; (4) Co(III), $3.83 \times 10^{-4} \text{M}$ (in the presence of KIO_4); (5) TAMSPB

Table 7 からわかるようにキレートの生成定数はTAMSPB>TAMSEB>TAMSMBの順に大きくなっている。なお、TAMSPB及びTAMSEBのスルホプロピル基及びスルホエチル基はアルカリ溶液中でもTAMSMBのように脱離しない。

12)

3.3.4 ピリジルアゾ安息香酸誘導体との比較

3, 5-d i C l - P A M S P B はチアゾリルアゾ安息香酸誘導体と比べて多くの金属イオンと反応する。すなわち、C u (II)、N i (II)、C o (II)、(III)、Z n (II)、C d (II)、F e (II)、H g (II)、P d (II)、G a (III)、V (V) と反応してそれぞれ紫から青色を呈する。3, 5-d i C l - P A M S P B ニッケルキレートの吸収曲線をF i g. 14に示す。

又、3, 5-d i C l - P A M S P B ニッケル1 : 1キレートのモル吸光係数は $6 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ で、TAMSMB、5-Br-TAMSMB、N-Et-TASMBとのニッケルキレートのモル吸光係数 4.5×10^4 、 3.9×10^4 、 $4.7 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ より大きい。

求めたニッケルキレートの生成定数をTable 8に示す。

Table 8. Acidity constants of the reagents and formation constants of the nickel chelates ($\mu = 0.1$, 25°C)

Reagent	$\text{p}k_{\text{NH}}$	$\text{p}k_{\text{COOH}}$	$\log K_{\text{NiL}}$	$\log K_{\text{NiL}_2}$
TAMSMB	1.3 ^a	3.4 ^a	5.3	3.9
5-Br-TAMSMB	<0.5 ^a	3.1 ^a	4.1	-
N-Et-TASMB	1.4	3.3	5.2	-
3,5-diCl-PAMSPB	<0.5	4.1	6.5	5.3
TAMB	1.9 ^b	3.6 ^b	5.5 ^c	-
TASMB	1.3 ^a	3.3 ^a	4.8	-

a: reference 10, b: reference 9, c: in 2%(v/v) dioxane, -: not determined.

F i g. 14 及びTable 8 からわかるように、3, 5-d i C l - P A M S P B はチアゾリルアゾ安息香酸誘導体と比べてニッケルキレートは1 : 2 錯体 (M R₂) を生成し易くフェノール類縁体と同様反応性が大きい。

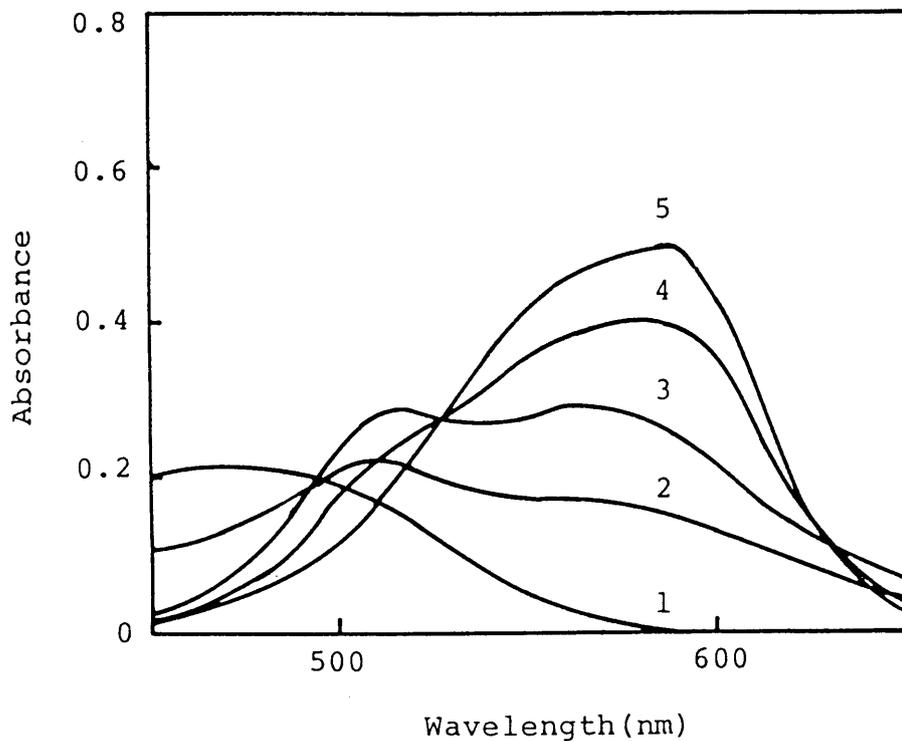


Fig. 14 Absorption spectra of
3,5-diCl-PAMSPB and the
nickel chelates at pH 5.3

$$C_L = 8.40 \times 10^{-6} \text{ M}$$

$$C_{Ni} = (1) \text{ none}$$

$$(2) 2.07 \times 10^{-6} \text{ M}$$

$$(3) 4.14 \times 10^{-6} \text{ M}$$

$$(4) 8.27 \times 10^{-6} \text{ M}$$

$$(5) 2.07 \times 10^{-4} \text{ M}$$

3.4 分析化学への応用

3.4.1 ニッケルの指示薬としての2-(2-チアゾリルアゾ)安息香酸誘導体

従来、ニッケルをEDTAで直接滴定する場合の良い指示薬はあまり知られていない。ニッケルと安定な錯体を生成し強く呈色する幾つかのヘテロ環アゾフェノール誘導体がニッケルの指示薬として提案された。^{13)~19)} これらのヘテロ環アゾフェノール誘導体は平衡論的及び変色のコントラストの点では優れているが、一般に終点近傍における変色速度があまり大きくなく、80°C以上に加熱して滴定しなければならない。中川、和田らは先に2-(2-ピリジルアゾ)-4-メチルフェノール(PAC)、2-(2-チアゾリルアゾ)-4-メチルフェノール(TAC)及び2-(2-イミダゾリルアゾ)-4-メチルフェノール(2-IAC)が変色域及び変色のコントラストの点でニッケルの指示薬として優れていることを見いだしたがやはり変色速度はおそく80°C以上に加熱して滴定する必要がある。^{20) 21)}

変色速度の大きいニッケルの指示薬を開発する目的で合成した上記のヘテロ環アゾ化合物のフェノールを安息香酸に置き換えた幾つかの2-(2-チアゾリルアゾ)安息香酸誘導体のニッケルの指示薬としての性質を検討した。TAMSMB、TASMB、5-Br-TAMSMB及びN-Et-TASMBとのニッケルキレートの吸収曲線をFig. 15に示す。10⁻³Mニッケル溶液をTAMSMB、N-Et-TASMB、TASMB、3,5-diCl-PAMSPBを指示薬として10⁻²M EDTAで光度滴定した結果をFig. 16に示す。

Fig. 16からわかるようにTAMSMB、N-Et-TASMB、TASMBの場合はpH4~6.5で40°Cの加熱で鋭敏な変色が得られ、3,5-diCl-PAMSPBの場合は80°Cの加熱でも変色はおそい。TAMBを用いた場合は40°Cでは変色速度が遅いが55°Cに加熱すればFig. 16(1)と同様の滴定曲線となった。

実際に肉眼での終点を判別はTAMSMB及びTASMBは40°Cの加熱で紫色から黄色への鋭敏な変色が見られた。5-Br-TAMSMB、N-Et-TASMBの場合は終点の変色が紫色から橙色でTAMSMB及びTASMBの場合に比べて色のコントラストの点で劣っていた。3,5-diCl-PAMSPBの場合は溶液を沸騰させて滴定

しなければならなかった。これらのことからTAMSMB及びTASMBはニッケルの指示薬として優れていると考えられる。とくにTAMSMBの方がTASMBに比べて合成及び精製が極めて容易である点で実用的である。現在実用分析にも広く用いられている。

TAMSMBを用いてニッケル溶液を滴定した結果を Table 9 に示す。

Table 9 Visual EDTA-titrations of nickel with TAMSMB as indicator

pH	Ni taken(mg)	Ni found(mg)
4.4	3.29	3.30
	6.58	6.58
	9.86	9.86
5.4	3.29	3.29
	6.58	6.58
	9.86	9.86
6.0	1.39	1.37
	2.78	2.78
	5.56	5.55
	9.86	9.86

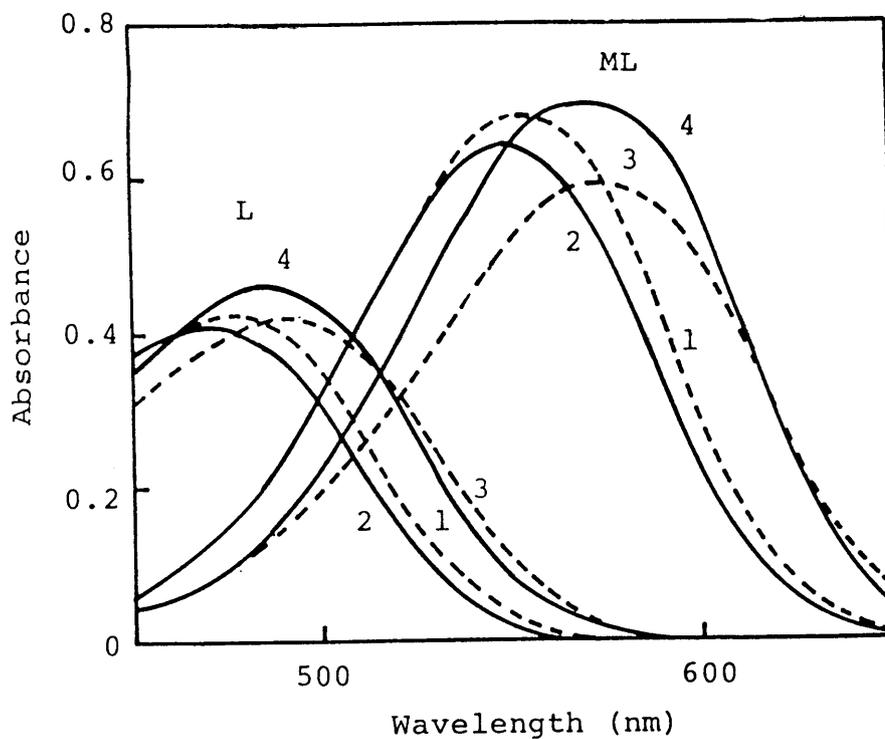


Fig. 15 Absorption spectra
reagents(L) and the ni
chelates(ML) at pH 5.0

$$C_L = 1.50 \times 10^{-5} M$$

$$C_{Ni} = 6.20 \times 10^{-4} M$$

(1) TAMSMB; (2) TASMB;

(3) 5-Br-TAMSMB;

(4) N-Et-TASMB

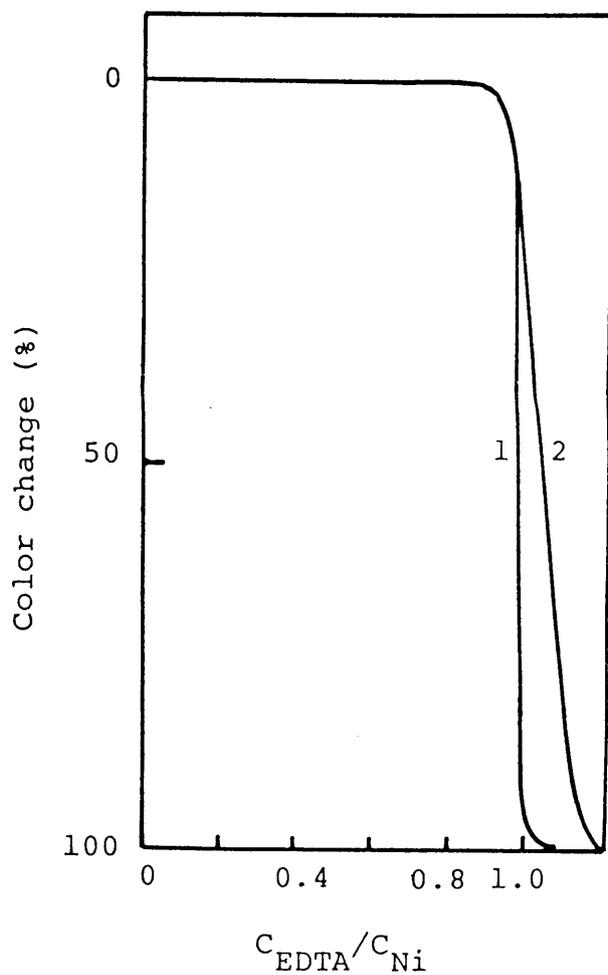
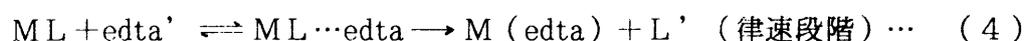


Fig. 16 Photometric titration curve of nickel with EDTA at pH 4 - 6.5
 $C_{Ni} = 10^{-3}M$: (1) TAMSMB, N-Et-TASMB, or TASMB at 40°C with a 562nm filter
 (2) 3,5-diCl-PAMSPB at 80°C with a 575nm filter

$C_{ind} = 5 \times 10^{-6}M$

Titration speed: 0.7 ml/min

以上の結果より、チアゾリルアゾ化合物のカップリング成分をフェノールから安息香酸誘導体に置き換えたことによってニッケルキレートのEDTAによる置換反応速度が著しく大きくなることがわかった。これは試薬のカルボキシル基の塩基性がフェノール性水酸基の塩基性に比べて小さいためとフェノールの場合にはニッケルと5員環キレートを形成するが、安息香酸の場合は一方が6員環になるためニッケルと試薬の結合が弱く、1:2キレート(ML₂)が生成し難くなるためと考えられる。一般に1:2(ML₂)キレートのEDTAによる置換反応は次のように進行する。²⁰⁾⁻²³⁾



すなわち、ML₂と平衡にあるMLがEDTAで置換される反応が律速段階である。

ML₂が生成しやすい場合はML₂と平衡のあるMLの濃度は小さいから、全体として置換反応はMLのみが生成する場合に比べて著しく遅くなると考えられる。TAMSMB及びTASMBはML₂を生成し難いため滴定の終点における変色速度はML₂を生成しやすいTASMP、TAC、3,5-diCl-PAMSPBに比べて大きくなっている。なお、TACの場合は少量の1,10-フェナントロリンを添加すると変色速度が速くなったがTAMSMB及びTASMBの場合はこれ以上速くならなかった。

以上の結果より、TAMSMB及びTASMBは試薬及びニッケルキレートの水溶性が大きいうえに変色速度が大きく、わずかに加熱するだけで滴定でき、変色のコントラストも良いのでニッケルの指示薬として優れている。TAMSMBは現在知られているニッケルの指示薬としては最も優れた指示薬であり、種々の文献に引用されている。^{24) 25)}

TAMSMBニッケルキレートのEDTAによる置換反応速度を測定した。

ニッケル(0.78-1.515)×10⁻⁵M、TAMSMB(1.016-3.385)×10⁻⁵M、MES-水酸化ナトリウム緩衝液(0.01M)、硝酸カリウム(0.1M)を含む溶液とEDTA(0.234-4.09)×10⁻³M、MES-水酸化ナトリウム緩衝液(0.01M)、硝酸カリウム(0.1M)を含む溶液をストップドフロー法で混合、その吸光度の減少を554nmで時間に対して測定した。(温度25°C)

反応速度式は $-d[NiL]/dt = k_{(L, EDTA, H)} [NiL]$ で表される。

$k_{(L, EDTA, H)}$ はTAMSMBの濃度、EDTAの濃度、水素イオンの濃度を含んだ条件

速度定数である。測定の結果、 $k_{0(L, EDTA, H)}$ の値はEDTAの濃度に対して1次であり、TAMSMBの濃度には依存しなかった。又、pH4.5以上では $k_{0(L, EDTA, H)}$ の値はpHの増加とともに大きくなった。これらのことから速度式は

$-d[(NiL)'] / dt = k_{0(H)} [(NiL)'] [(edta)']$ と書き表わすことができる。ここで $(NiL)'$ は1:1ニッケル-TAMSMBキレートの全濃度を表し、 $(edta)'$ はニッケルイオンと反応していないEDTAの全濃度を表す。

$k_{0(H)}$ をpHに対して測定した結果をFig. 17に示す。pHの増加とともに $k_{0(H)}$ の値が増加している。TAMSMBの場合は前に述べたようにニッケルと主として1:1キレート(NiL)を生成しており、pH4.5以上の範囲でNiL(OH)キレートの速い置換反応が起きているものと考えられる。^{20) 23)}

ニッケル-TAMSMBキレート(NiL)の速度定数はpH4付近の $k_{0(H)}$ の値から $k = 2.2 M^{-1} S^{-1}$ が得られた。この値はニッケル-PAC {2-(2-ピリジルアゾ)-p-クレゾール}キレートのEDTAによる置換反応速度定数 $6.9 M^{-1} S^{-1}$ とほぼ同様である。²¹⁾しかしPACの場合よりもTAMSMBの変色速度が速いのはTAMSMBの変色にはNiL₂が関与していないことによる。

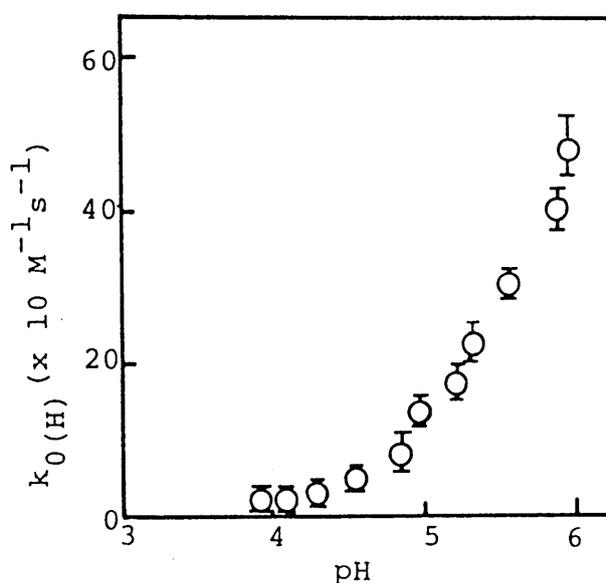


Fig.17 plot of $k_{0(H)}$ vs. pH

3.4.2 コバルトの比色定量試薬としての2-(2-チアゾリルアゾ)-4-メチル-5-スルホメチルアミノ安息香酸(TAMSMB)

いくつかのコバルトの高感度比色試薬が報告されているが^{1) 4) 26)}、現在ではピリジリアゾアミノベンゼン誘導体すなわち4-(5-ブロモ-2-ピリジリアゾ)-1,3-ジアミノベンゼン(5-Br-PADAB)、5-(3,5-ジクロロ-2-ピリジリアゾ)-2,4-ジアミノトルエン(3,5-diCl-PADAT)が最も高感度である。これらの試薬はコバルトと弱酸性あるいは中性溶液中で錯形成するがあまり強く呈色しないがこの溶液を強酸性にするとコバルト錯体のモル吸光係数は著しく増大する。この条件で共存するニッケル(II)、銅(II)、水銀(II)、亜鉛(II)などの錯体は強酸性にすることにより分解し妨害しない。しかし、吸光度法で定量を行なう場合、このように強酸性にすることは機器の腐食など取り扱いが不便で不都合な点が多い。

Kiss²⁶⁾は5-Br-PADABを用い2.4M塩酸酸性中で珪酸塩及び隕鉄中のコバルトの定量を行ない、そのモル吸光係数は $1.16 \times 10^5 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ であると報告している。一方BaudinoとMarone²⁷⁾は2.4M塩酸溶液中では鉄-5-Br-PADAB錯体の分解が遅くコバルトの定量を妨害すると報告している。又、多量のニッケル(II)、銅(II)、水銀(II)、亜鉛(II)、などが共存すると、これらの金属イオンが試薬を消費するためコバルトの呈色が十分ではないとしてBaudinoとMaroneはCo(III)-5-Br-PADABをアントラキノンスルホン酸塩とのイオン会合体としクロロホルム中に抽出したのち抽出されたCo(III)錯体を2.4M塩酸中に逆抽出することによって定量を行なっている。また柴田ら¹⁾は5-Br-PADABより高感度な3,5-diCl-PADAT(Co(III)キレート $\epsilon = 1.38 \times 10^5$)を用いるコバルトの定量を推奨しているが、それらの応用についての詳しい検討がなされていない。そこで著者は高感度、高選択性でかつ水溶性試薬である2-(2-チアゾリルアゾ)-4-メチル-5-スルホメチルアミノ安息香酸(TAMSMB)、2-(5-ブロモ-2-チアゾリルアゾ)-4-メチル-5-スルホメチルアミノ安息香酸(5-Br-TAMSMB)のコバルトの比色試薬としての性質を検討した。

TAMSMB、5-Br-TAMSMB²⁸⁾のコバルト錯体のモル吸光係数はそれぞれ $1.13 \times 10^5 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ($\lambda_{\text{max}} 655 \text{ nm}$)、 $1.10 \times 10^5 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ($\lambda_{\text{max}} 675 \text{ nm}$)と大きく、一度生成したコバルト錯体は安定で、銅(II)、ニッケル(II)

錯体はEDTAの添加で分解するが、コバルト錯体は分解しないことを見いだした。従って強酸性溶液の取り扱いや抽出などの煩雑な操作を必要とせず、水溶液中で短時間で簡単に測定できるTAMSMBを用いてコバルトの定量法を検討し、種々の実試料にも応用した。

定量条件の設定

コバルト-TAMSMB錯体の吸収曲線

Co(II), Co(III)-TAMSMB錯体及びTAMSMBのpH5.0における吸収曲線をFig. 10に示した。Co(III)錯体は典型的な電荷移動吸収帯を示す。

コバルト(III)-TAMSMB錯体の生成における酸化剤の影響

酸化剤が存在しない場合、コバルト(II)-TAMSMB錯体が生成するが徐々に酸化されてコバルト(III)-TAMSMB錯体に変化する。アスコルビン酸が存在すれば、コバルト(II)錯体は安定に存在する。コバルトの酸化剤として過ヨウ素酸カリウムが効果的であり、コバルト(III)-TAMSMB錯体の生成時間は過ヨウ素酸カリウムの濃度及びTAMSMBの濃度に依存する。 6.01×10^{-6} Mコバルト(II)と 7.54×10^{-5} M TAMSMBを含む溶液に0.4% (w/v) 過ヨウ素酸カリウム溶液を1-5ml加えた時のコバルト(III)錯体の吸光度変化を655nmで測定した結果をFig. 18に示す。655nmにおける吸光度は0.4% (w/v) 過ヨウ素酸カリウムを2ml以上で10分以内に最大一定となった。従ってKIO₄溶液2mlを加えることにした。

酸化剤として過酸化水素を使用した場合は、過ヨウ素酸カリウムを使った場合の吸光度に比べて10%程小さかった。臭素酸カリウム及びヨウ素酸カリウムを使った場合、過ヨウ素酸カリウムを使った場合に比べて最大吸光度に達するのに要する時間が長くなった。

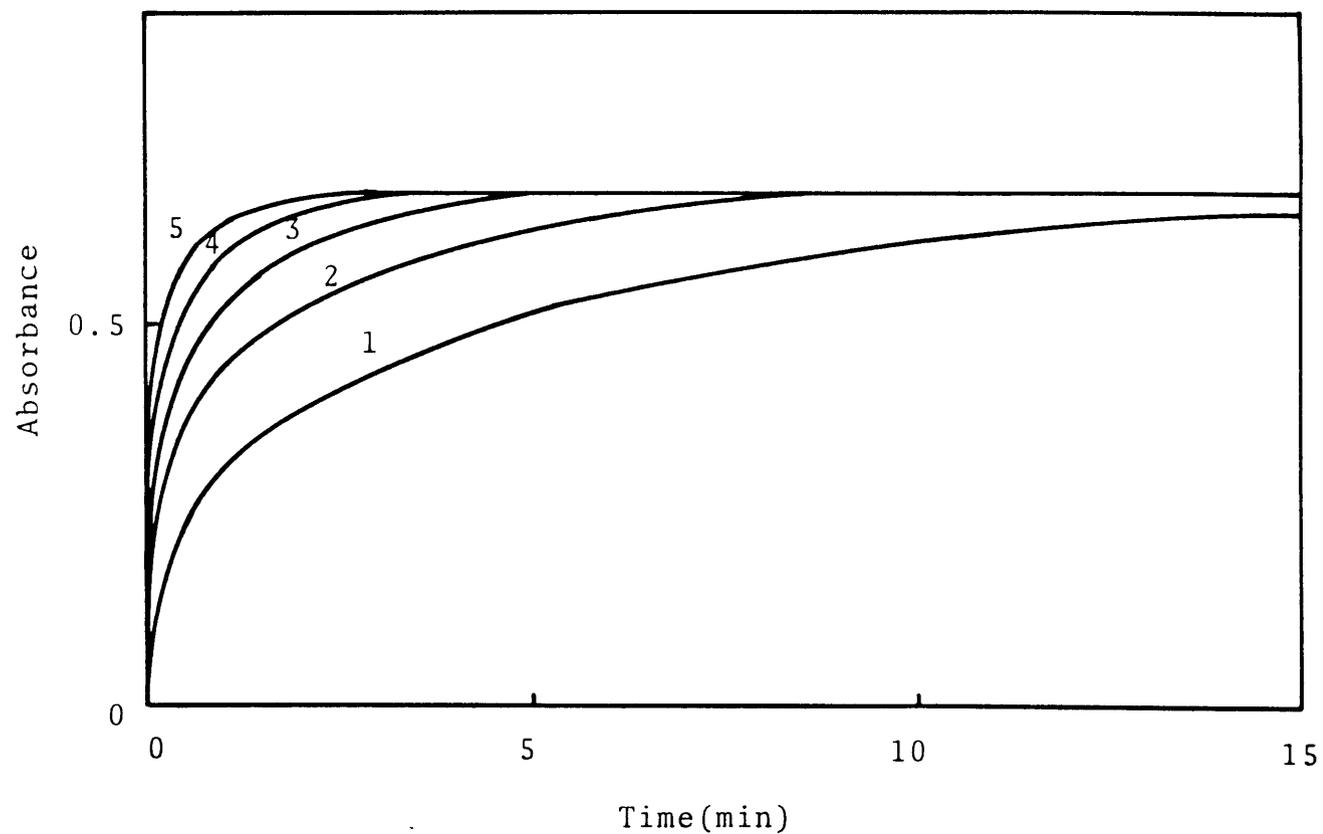


Fig.18 Effect of KIO_4 on the formation of Co(III)-TAMSMB complex (TAMSMB, $7.54 \times 10^{-5}M$; Co, $6.01 \times 10^{-6}M$, pH 5.0): 0.4% (w/v) KIO_4 , (1) 1 ml; (2) 2 ml; (3) 3 ml; (4) 4 ml; (5) 5 ml

コバルト (III) - TAMSMB 錯体の組成

連続変化法を用いて測定した結果、コバルト (III) - TAMSMB 錯体は 1 : 2 (ML₂) 錯体が主として生成していることがわかった。しかし前にも述べたようにニッケル (II)、銅 (II) 錯体は TAMSMB が大過剰に存在しなければ、主として 1 : 1 (ML) 錯体のみを生成する。

コバルト (III) - TAMSMB 錯体の生成に対する pH 及び TAMSMB 濃度の影響

コバルト (III) - TAMSMB 錯体の 655 nm での吸光度を種々の pH で測定した。Fig. 19 に示すように pH 3 ~ 6.5 の間で吸光度は最大一定であった。しかし、pH を調節する場合に、濃いアルカリ溶液 (30% w/v 水酸化ナトリウムなど) を用いると TAMSMB 及びコバルト (III) - TAMSMB 錯体いずれもアゾの p-位の N-スルホメチル基が脱離し 2-(2-チアゾリルアゾ)-4-メチル-5-アミノ安息香酸及びそのコバルト錯体になり、極大吸収波長は 635 nm に移動し、モル吸光係数も $9.56 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ と下がった。従って pH 調節には酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液を用いる必要があった。

試薬濃度の影響を調べた結果、コバルトに対して試薬がモル比で 6 倍量以上存在すれば吸光度は最大一定となった。安全を見込んでコバルトに対して試薬を 10 倍量以上加えれば 0.4% 過ヨウ素酸カリウム溶液 2 ml の存在下で 10 分以内にコバルト (III) - TAMSMB 錯体が定量的に生成した。一旦生成したコバルト錯体の吸光度は少なくとも 24 時間は変化しなかった。

実試料中のコバルトの定量を行なう場合、しばしば多くの TAMSMB と錯形成する金属イオンが共存するので TAMSMB 濃度を高くする必要がある。TAMSMB は $2 \times 10^{-3} \text{ M}$ 存在しても pH 4.5 以上で 655 nm での吸光度は無視し得る程であり、又試薬濃度が高くなればなるほどコバルト (III) 錯体の生成時間は速くなった。実試料中のコバルトの定量には $5 \times 10^{-3} \text{ M}$ TAMSMB 溶液の 2 ~ 9 ml を使うこととした。

標準操作法及び検量線

コバルトの定量法を次のように定めた。25 ml メスフラスコに試料溶液 (コバルト

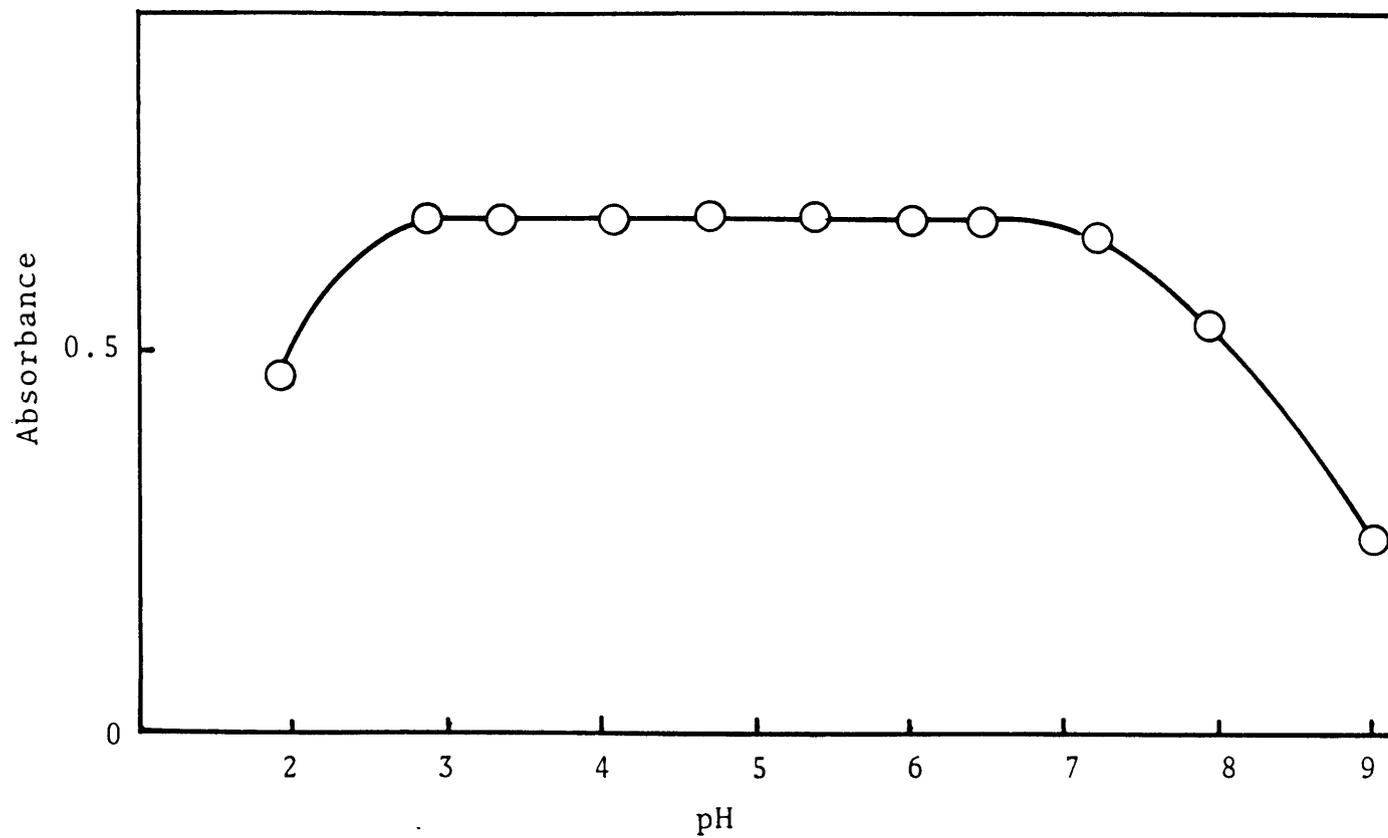


Fig. 19 Effect of pH on the formation of Co(III)-TAMSMB complex:
 $7.54 \times 10^{-5} \text{M}$ TAMSMB; $6.01 \times 10^{-6} \text{M}$ Co; 0.4% (w/v) KIO_4 2 ml

1～13 μg を含む)をとり、 $5 \times 10^{-3}\text{M}$ TAMSMB溶液を2～9 ml 加え、0.4%過ヨウ素酸カリウム溶液2 mlを加える。0.2M酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液2 mlを加え、pHを5に調節する。10分間放置後、必要があれば 10^{-2}M EDTA溶液を1～8 ml加え、水を加えて25 mlとし、655 nmで水を対照として吸光度を測定する。

上の方法に従って検量線を作成したところ、コバルト0～13 $\mu\text{g}/25\text{ml}$ まで原点を通る直線となり、感度はサンデル表示で0.52 ng/cm^2 であった。検出限界は8 ng/ml である。

共存イオンの影響

TAMSMBはpH5で銅(II)、ニッケル(II)、鉄(II)、パラジウム(II)と反応する。コバルトと同量程度の銅(II)、ニッケル(II)は測定波長の655 nmでの吸光度に影響を与えない。これ以上の銅(II)及びニッケル(II)はコバルト錯体の吸光度を増加させるが、コバルト(III)-TAMSMB錯体と銅(II)及びニッケル(II)錯体を生成させた後EDTAを加えることにより銅(II)、ニッケル(II)-TAMSMB錯体のみをすみやかに分解できた。コバルト-TAMSMB錯体はEDTAを加えた後少なくとも30分間は吸光度の減少は見られないが、1時間後には1%程度吸光度の減少が見られた。 10^{-2}M EDTA 8 ml加えることにより0.4 mgまでの銅(II)、2.0 mgまでのニッケル(II)の妨害を除去できた。0.4 mg以上の銅(II)が存在する場合は銅(II)-EDTA錯体の吸収が655 nmに現われ正の誤差を生じた。

さらに多量の銅(II)、ニッケル(II)のマスキング剤としてニトリロ三酢酸及びクエン酸を加える方法も検討したが、多量のニトリロ三酢酸、クエン酸を必要とした。

鉄が存在しても酸化剤により全て鉄(III)となりTAMSMBと反応しない。しかし、0.25 mg以上の鉄が存在すると鉄の水酸化物が沈殿しコバルトの定量を妨害する。この場合は沈殿を濾別することにより妨害を除くことができた。

マンガン(II)は過ヨウ素酸カリウムの存在下でTAMSMBと褐色錯体を生成しコバルトの定量を妨害するが、ピロリン酸ナトリウムを加えることによりマンガン(II)をマスキングすることができた。しかし、ピロリン酸ナトリウムを添加した場合発色後EDTAを加えるとコバルト(III)-TAMSMB錯体が急速に分解した。

クロム(III)はTAMSMBとゆっくり反応するが過ヨウ素酸カリウムが存在するとクロム(VI)に酸化され、TAMSMBと反応しなくなる。過酸化水素を酸化剤として使用すればマンガン(II)はTAMSMBと反応しなくなるが、クロム(III)はTAMSMBと反応した。

パラジウム(II)はTAMSMBと錯形成し沈殿した。鉄(III)の場合同様この沈殿を濾別することによりコバルトの定量に妨害を与えない。

これらの結果を Table 10 に示す。陰イオンの妨害について調べた結果 Table 10 に示した濃度まで妨害を示さなかった。

Table 10

Effects of other ions on the determination of cobalt(8.85 μg)

Other ion	Added (mg)	Co found (μg)	Other ion	Added (mg)	Co found (μg)
Cu(II)	0.20	8.91 ^a	Pyrohoosphate	43	8.85
	0.79	9.24 ^a	Chloride	220	8.85
Ni(II)	1.5	8.85 ^a	Sulfate	660	8.85
	0.15	8.90	Perchlorate	620	8.85
Fe(II)(III)	0.42	8.85 ^b	Nitrate	390	8.85
	0.11	8.85 ^c	Acetate	750	8.85

a 10^{-2}M EDTA(1-8ml) added.

b Precipitate filtered off.

c 6% $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ (2ml) added.

3.4.3. 実試料への応用

(1). 試薬特級ニッケル塩中の微量コバルトの定量

定量操作

ニッケル塩をその濃度が約 $10^{-2}M$ で 100 ml になるように秤量して、それを約 $10^{-4}M$ 塩酸 100 ml に溶かして TAMSMB を指示薬として酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液を加えて pH 5~6 とし EDTA 標準溶液でキレート適定しニッケルの正確な濃度を定めた。次にその試料溶液 2 ml をメスフラスコ (25 ml) に分取して、先に述べた方法に従ってコバルトの定量を行なった。定量結果を Table 11 に示す。TAMSMB 法によるコバルトの定量値は 3~5 回測定で得られた平均値であり、桐栄、本水⁴⁾により提案されているニトロソ-DMAP (2-ニトロソ-5-ジメチルアミノフェノール) を用いる 1, 2-ジクロロエタンによる抽出法で得た値とよい一致を示した。但しコバルトの含有量の少ない試料の場合にはその吸光度の読みの精度が低いので陰イオン交換樹脂を用いて濃縮し同時に大過剰のニッケルを除去した。

ニトロソ-DMAP を用いる方法は TAMSMB 法より感度が低く、また若干試薬プランクが大きいため TAMSMB 法の方が優れていると思われる。

Table 11

Determination of cobalt in nickel salts

Nickel salt	Brand	Taken (g)	Co found (%)	
			TAMSMB	Nitroso-DMAP
$\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	A	0.26	0.1200 ± 0.0005	0.120
	B	0.26	0.0219 ± 0.0001	0.022
$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	C	0.24	0.0084 ± 0.00005	0.0073
	C	1.8^a	0.0012 ± 0.0001	0.0011
$\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	C	0.29	0.0665 ± 0.0002	0.066
$\text{NiSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	D	0.40	0.1039 ± 0.0004	0.100
	C	0.40	0.0166 ± 0.0001	0.017
	B	2.5^a	0.00030 ± 0.00002	0.0004

a Separated nickel with an anion-exchange column (Diaion SA#100).

(2). ガラス中の微量コバルトの定量

定量操作

メノウ乳鉢中で細かく粉碎したガラス0.28~1.04 gを白金ルツボに取り、70%過塩素酸1 mlとフッ化水素酸5 mlをゆっくり加えた。発熱が止まってから弱火で突沸しないようにシロップ状になるまで加熱し、内容物を50 mlのメスフラスコに移して水で標線に合わせた。次にその試料溶液1~3 mlを25 mlメスフラスコに分取し同様な方法でコバルトの定量を行なった。定量結果をTable 12に示す。試料3と6はマンガンが含まれているが銅およびニッケルはごく少量しか含まれていないのでマンガンのマスクングのために6% (w/v) ピロリン酸ナトリウムを2 ml加えた。コバルトの定量値はニトロソ-DMAPを用いた結果とよく一致している。

Table 12

Determination of cobalt in glass samples

Sample taken(g)	Co found(%)	
	TAMSMB	Nitroso-DMAP
1 0.28	0.0095±0.0002	0.0094
2 0.52	0.0036±0.0001	0.0037
3 0.54	0.0022±0.0001 ^a	0.0022
4 1.04	0.0005±0.0001	0.0006
5 0.68	0.0015±0.0000	0.0014
6 0.55	0.0012±0.0001 ^a	0.0012

a 6% $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ added to mask Mn.

(3) 鉄鋼中のコバルトの定量

従来鉄鋼中のコバルトの定量には α -ニトロソ- β -ナフトールあるいはニトロソR塩が広く用いられている。これらの試薬はコバルトに対して選択的であるが、感度はあまり高くなく、又試薬ブランクがかなり大きいなどの欠点がある。そこでTAMSMBを鉄鋼中のコバルトの定量に応用した。また最近コバルトに対する高感度試薬として報告されたいくつかの試薬とも比較検討した。

定量操作

試料溶液の調製

鉄鋼試料を0.1~1.3gをビーカーにとり、王水20mlを加え、内容物がシロップ状になるまで弱火で加熱する。ここへ7M塩酸を10ml加え、よくかきまぜたのち不溶物を濾別する。7M塩酸15mlで濾紙及びビーカーを洗い、先の濾液に加えた。この溶液を分液ロートに移し、同等量のメチルイソブチルケトン(MIBK)を加え、鉄を抽出した。この抽出を繰り返し完全に鉄を除き、水相を少量になるまで蒸発させた。マンガン(II)、銅(II)、ニッケル(II)が共存する場合はマンガン(II)を予めイオン交換樹脂を用いて除いておく必要がある。従って、ここへ9M塩酸を30ml加え、陰イオン交換樹脂カラム(DiaionSA#100, i.d.1cm, 長さ10cm)を通し、コバルトをクロロ錯体として吸着させた。さらに9M塩酸100mlを用いてカラムを洗浄した。樹脂に吸着しているコバルト(II)-クロロ錯体を1M塩酸50mlで溶離させ、溶出したコバルト溶液に1ml濃硫酸及び1ml濃硝酸を加え、白煙を発するまで濃縮した。内容物を50mlメスフラスコに移し水で標線まで希釈し、試料溶液とした。

先の不溶物に濃硫酸3、濃硝酸10、水14の割合の混合溶液を加え加熱溶解し、少量になるまで蒸発させた。この溶液を水で希釈してTAMSMBと反応しないことによりコバルトカーバイトが入っていないことを確認した。

吸光度の測定

25 ml メスフラスコに先に調製した試料溶液の一部 (Co 1~13 μ g を含む) をとり、 5×10^{-3} M TAMSMB 9 ml を加えた。更に 0.4% KIO_4 溶液 2 ml、ついで 1.25 M 酢酸-酢酸ナトリウム 2 ml を加え pH を 5 とし、10 分間放置した。そこへ 10^{-2} M EDTA 8 ml を加え、水で標線まで希釈し、655 nm での吸光度を水を対照として測定した。

定量結果

NBS 標準試料 6 種、BCS-327 及び GK-14 (Japanese Standard of Iron and Steel) 中のコバルトを先で述べた方法で定量し、その結果を Table 13 に示す。コバルトの定量の前に MIBK により抽出、鉄を除去したが、もし鉄鋼中に 0.5% 以上のコバルトが含まれているならば鉄を除去しなくても定量が可能である。TAMSMB を用いて得られたコバルトの定量値はニトロソ-DMAP-1, 2-ジクロロエタン抽出法、原子吸光光度法で得られた値とよく一致している。しかし NBS 19g、363 の保証値はここで得られた値より大きい。NBS に問い合わせたところ再測定を行なっているということである。²⁹⁾

Table 13 Determination of Cobalt in Steel

Sample	Certified value	Co%		
		TAMSMB method	Nitroso-DMAP	AAS
NBS 19g	0.012	0.0108 \pm 0.0002	0.0108	0.0110
NBS 361	0.030	0.0295 \pm 0.0003	0.0300	0.0298
NBS 362	0.30	0.299 \pm 0.001	0.303	0.297
NBS 363	0.048	0.0449 \pm 0.0002	0.0451	0.0460
NBS 364	0.15	0.150 \pm 0.001	0.150	-
NBS 121d	0.10	0.100 \pm 0.002	0.101	0.0979
BCS 327	0.006	0.00605 \pm 0.00003	-	-
GK-14	0.008	0.0075 \pm 0.00000	0.00771	0.00771

他の試薬との比較

コバルトの比色定量試薬として多くの試薬が報告されているが、これら試薬の優劣は感度、選択性、実試料への応用の可能性などの比較によって決められるべきである。そこで TAMSMB、2-(5-ブロモ-2-ピリジルアゾ)-5-ジエチルアミノフェノール (5-Br-PADAP)³⁰⁾⁻³²⁾、2-(2-ピリジルアゾ)-4-メチル-5-エチルアミノフェノール (EAPAC)³³⁾、4-(5-ハロゲノ-2-ピリジルアゾ)-1,3-ジアミノベンゼン (5-Cl-PADAB、5-Br-PADAB)^{26) 34)}、5-(3,5-ジハロゲノ-2-ピリジルアゾ)-2,4-ジアミノトルエン (3,5-diCl-PADAT、3,5-diBr-PADAT)¹⁾、3-(2-チアゾリルアゾ)-2,6-ジアミノトルエン (2,6-TADAT)³⁵⁾、2-(3,5-ジプロモ-2-ピリジルアゾ)-5-ジメチルアミノ安息香酸 (3,5-diBr-PAMB)³⁾ と比較検討した。

これらの試薬とコバルト錯体のモル吸光係数をTable 14中の測定条件で比較した。

Table 14. Sensitivity

Reagent	$\epsilon \times 10^{-4}$	(λ_{\max})	Condition
TAMSMB	11.3	(655nm)	pH 5.0, KIO_4 , H_2O
3,5-diBr-PAMB	14.6	(667nm)	pH 5.7, KIO_4 , 50% MeOH
5-Cl-PADAB	6.1	(506nm)	pH 5.0, 20% EtOH
	12.4	(568nm)	2.4M HCl, 20% EtOH
3,5-diBr-PADAT	6.3	(522nm)	pH 5.0, 20% EtOH
	13.4	(591nm)	2.4M HCl, 8% EtOH
5-Br-PADAP	9.8	(586nm)	pH 5.0, 20% EtOH
	9.4	(588nm)	3.6M HCl, 20% EtOH
EAPAC	7.1	(530nm)	pH 5.0, 20% EtOH
	6.5	(530nm)	1.9M HCl, 20% EtOH
2,6-TADAT	9.7	(590nm)	1.35M HClO_4 sodium vanadate

感度は3, 5-diBr-PAMBが最も大きく、 $1.46 \times 10^5 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ を示している。5-Cl-PADAB及び3, 5-diBr-PADATは強酸性にすることで感度が著しく大きくなる。一方、5-Br-PADAP、EAPACは逆に感度は低下している。TAMSMB及び3, 5-diBr-PAMBは過ヨウ素酸カリウムの存在下でコバルト(III)錯体を生成するが、他の試薬は酸化剤がなくてもすみやかにコバルト(III)錯体を生成する。その他は過ヨウ素酸カリウムなどの酸化剤を加えると試薬が分解した。TAMSMB及びTAMSMB-コバルト錯体は共に水溶性であるが他の試薬及びそのコバルト錯体は全て水に難溶性である。従って溶媒として水-アルコールなどが使われている。3, 5-diBr-PAMBはアルコールに対する溶解度も小さい。アルコールを含んでいる溶液を強酸性で測定する場合、セルからの Creep up などにより機器等に不都合が生じる場合が多い。ZbiralとSommer³¹⁾は5-Br-PADAP及びその錯体の溶剤としてTriton X-100とジメチルホルムアミドを使用している。測定波長における試薬ブランク及び $\Delta\lambda_{\text{max}}$ (錯体の λ_{max} - 試薬の λ_{max}) をTable 15 に示す。

Table 15 . Reagent blank

Reagent	Absorbance (Condition)	$\Delta\lambda_{\text{max}}$ (nm)
TAMSMB	0.000 (pH 5.0)	179
3,5-diBr-PAMB	0.005 (pH 5.7, 50% MeOH)	171
5-Cl-PADAB	0.120 (2.4M HCl, 20% EtOH)	145
3,5-diBr-PADAT	0.101 (2.4M HCl, 8% EtOH)	166
5-Br-PADAP	0.014 (pH 5.0, 20% EtOH)	142
	0.007 (3.6M HCl, 20% EtOH)	136
EAPAC	0.067 (pH 5.0, 20% EtOH)	100
	0.018 (1.9M HCl, 20% EtOH)	98
2,6-TADAT	≈ 0.07 (1.35M HClO ₄)	175

TAMSMB: $5 \times 10^{-3} \text{ M}$, 2,6-TADAT: $4 \times 10^{-5} \text{ M}$, other reagents:
 $8 \times 10^{-5} \text{ M}$

TAMSMBの測定波長での試薬ブランクは無視し得るが、5-Cl-PADAB、3,5-diBr-PADATでは $\Delta\lambda_{max}$ が大きいにもかかわらず測定波長での試薬ブランクはかなり大きい。5-Br-PADAPとEAPACはpHが高くなるに従い、試薬ブランクが増大しており、3.6Mあるいは1.9M塩酸中で減少している。試薬ブランクは含まれているアルコールの濃度によっても変化してくる。

これらの試薬を用いるコバルトの定量においては含まれている銅(II)、ニッケル(II)鉄(II)などの適当なマスクング剤がないので、弱酸性でこれら金属錯体を一旦生成させた後で、EDTAを加えるかあるいは過塩素酸、塩酸、硫酸などの強酸を加えることにより分解している。共存イオンの許容量は試薬の溶解度及び試薬ブランクによっても制限される。

3,5-diBr-PAMB-ニッケル錯体はEDTAによる置換反応が非常に遅く60分後でもコバルト(III)錯体の測定波長にニッケル錯体の吸収があり妨害する。

(Fig. 20)

またコバルト(III)-錯体以外の共存イオンの錯体を強酸を加えることによって分解しようとする、3,5-diBr-PAMBの試薬ブランクが著しく増大してしまう。

(Fig. 20, (4))

5-Cl-PADABと3,5-diBr-PADATの場合では、試薬ブランクが大きく、従って試薬濃度が制限されてくる。故に多量の銅(II)などが存在していると試薬が銅に消費され、コバルトの呈色が十分でなくなる。又、強酸による分解法を行なっても銅(II)錯体は完全には分解されない。それ故Fig. 21からわかるように

$8.27 \times 10^{-5}M$ の銅(II)が存在していた場合には負の誤差を与えているが $4.95 \times 10^{-5}M$ 銅(II)の場合は正の誤差を与えている。

柴田ら¹⁾は3,5-diCl-PADATを用いて鉄鋼中のコバルトの定量を鉄の分離除去せずに行なっており、0.2Mリン酸-0.1Mクエン酸を用いpH3.5で鉄をマスクングできると報告している。しかし、著者の実験によれば鉄の完全なマスクングは不完全でしかもコバルト(III)錯体の生成も不十分であった。(Fig. 22)

また3,5-diBr-PADAT鉄(II),(III)キレートは2.4M塩酸中でゆっくり分解した。

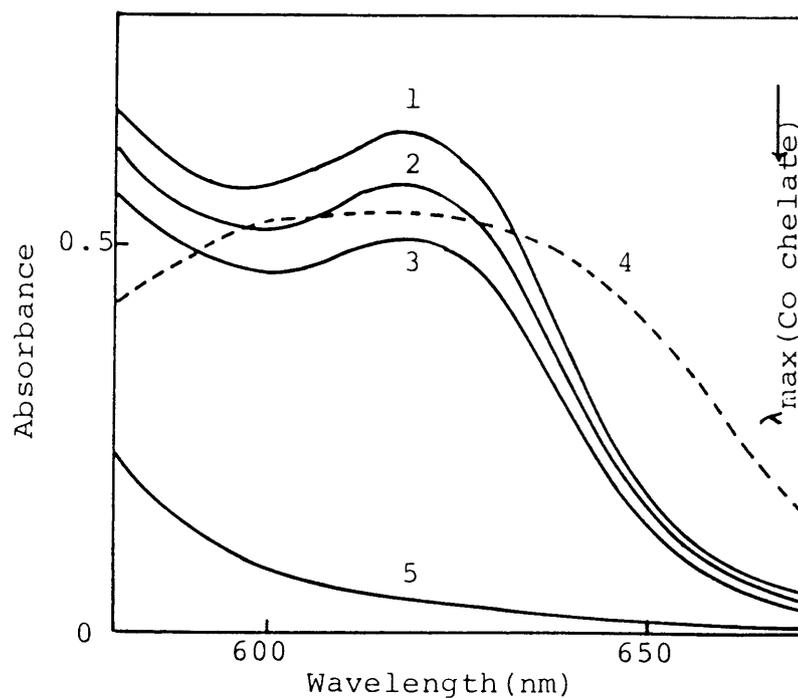


Fig. 20 Decomposition of Ni-3,5-diBr-PAMB chelate with EDTA
 $5.55 \times 10^{-5} \text{M}$ 3,5-diBr-PAMB, $4.13 \times 10^{-6} \text{M}$ nickel, $8 \times 10^{-4} \text{M}$ EDTA,
 pH 5.7, 50 % MeOH: (1) 0 min, (2) after 30 min, (3) after 60 min
 (4) Reagent blank in 2.4M HCl, (5) Reagent blank at pH 5.7,
 $1.18 \times 10^{-5} \text{M}$ 3,5-diBr-PAMB for (4) and (5).

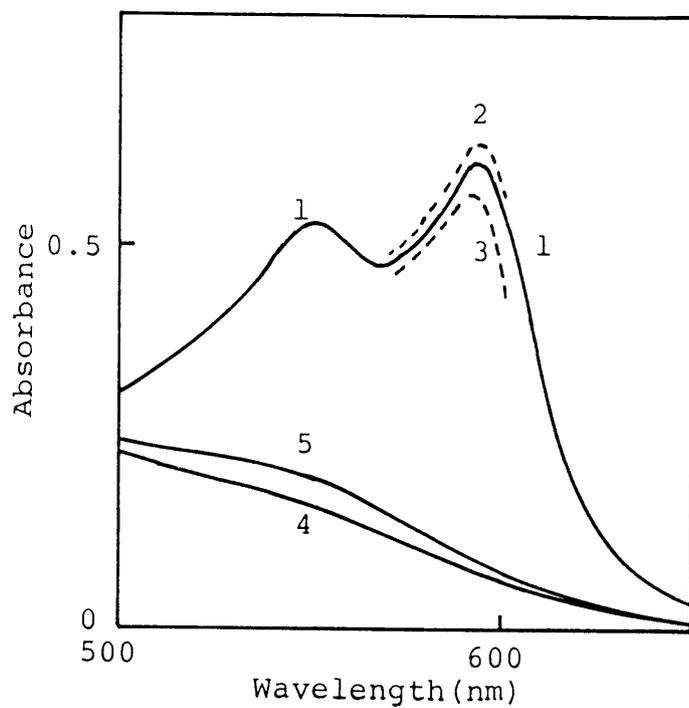


Fig. 21 Effect of copper(II) on the determination of cobalt with 3,5-diBr-PADAT in 2.4 M HCl, 8 % EtOH
 6.73×10^{-5} M 3,5-diBr-PADAT, 4.01×10^{-6} M cobalt : (1) Without copper(II), (2) 4.95×10^{-5} M copper(II), (3) 8.27×10^{-5} M copper(II) (4) Reagent only, (5) 6.20×10^{-5} M copper(II) and reagent

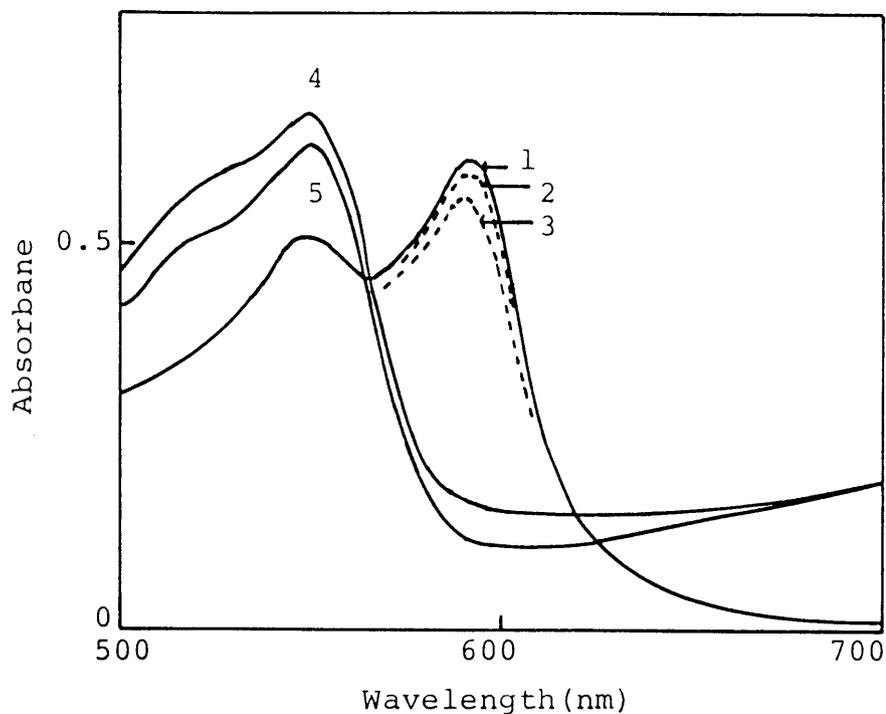


Fig. 22 Effect of iron(III) on the determination of cobalt with 3,5-diBr-PADAT in 2.4 M HCl, 8 % EtOH
 6.73×10^{-5} M 3,5-diBr-PADAT, 4.01×10^{-6} M cobalt : (1) - (3):
 Effect of phosphate-citrate buffer on the absorbance of the cobalt(III) chelate, Buffer concentration: (1) 0 - 0.02 M, (2) 0.04M, (3) 0.2M. (4), (5): Decomposition of iron(III) chelate in 2.4 M HCl, in the absence of phosphate and citrate. 4.0×10^{-6} M iron: (4) 0 min, (5) after 30 min.

これらのことから BaudinoとMarone²⁷⁾ はコバルト (III) - 3, 5 - di Br - PADAT 錯体をアントラキノンスルホン酸塩とイオン対を生成することによりクロロホルム中に抽出し コバルト (III) 錯体を 2. 4 M 塩酸で 逆抽出する操作を行なうことにより定量している。この方法ではいくつかのマスクキング剤すなわち銅に対してクペロン、鉄に対してはフッ化ナトリウムを使い選択性を改善している。

2, 6 - TADAT³⁴⁾ ではコバルト錯体の呈色のために1時間も要する不便さがある。5 - Br - PADAP、EAPACを用いる場合は鉄 (II)、クロム (III) の存在が コバルトの回収率を下げ、逆にマンガン (II) が存在すると正の誤差を生ずる。又強酸溶液中で鉄 (II)、バナジウム (V)、クロム (VI) などが存在するとコバルト (III) 錯体も分解してしまう。(Fig. 23)

EDTAを用いる共存イオンの錯体を分解する方法では分解速度が非常に遅い。EDTAを用いて、EAPAC - ニッケル錯体を完全に分解するのに80°Cに加熱して30分間を要した。

結論

TAMSMBはこれらの試薬の中で感度は最も大きくはないが次のような特徴を有している。

- (1) 試薬及びコバルト錯体が水溶性であるため有機溶媒が不要である。
- (2) 銅 (II)、ニッケル (II) のような共存イオンの妨害は、EDTAを加えることにより簡単に除去できる。溶液を強酸性にする必要がない。
- (3) 測定波長での試薬ブランクが小さいので無視できる。
- (4) マンガンはピロリン酸ナトリウムの添加でマスクングできるが、銅 (II)、ニッケル (II) と共存する場合はマンガンをあらかじめ除去する必要がある。
- (5) 感度はニトロソ - DMAP ($\epsilon = 6.0 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) の約2倍である。

またニトロソ - DMAPの場合、水溶液での定量は試薬ブランクが大きく精度が悪いので抽出する必要がある。

以上のことから、TAMSMBを用いるコバルトの比色定量法は種々の利点をもった優れた方法であると考えられる。

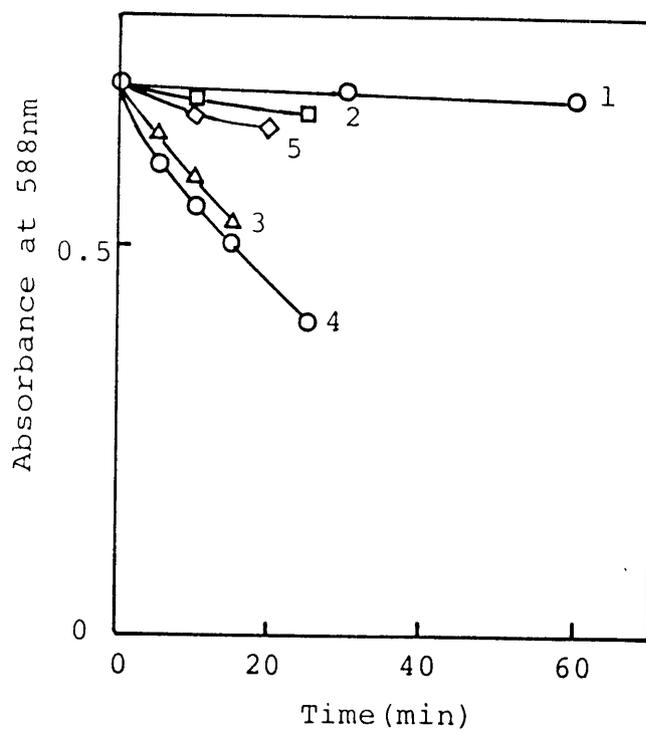


Fig. 23 Effects of divers ions on the absorbance of cobalt(III)-5-Br-PADAP

8.24×10^{-5} M 5-Br-PADAP, 8.02×10^{-6} M cobalt, in 3.6 M HCl, 20% EtOH

(1) cobalt only, (2) 3.7×10^{-5} M chromium(VI), (3) 8×10^{-5} M

iron(II), (4) 2.0×10^{-5} M vanadium(V), (5) iron(II) + vanadium(V)

3.4.4 2-(2-チアゾリルアゾ)-4-メチル-5-(スルホアルキルアミノ)

安息香酸類縁体を用いるフローインジェクション法による銅(II)の定量

第3章 Table6 に示したように、TAMSMBとその類縁体であるTAMSEB、TAMSPBは銅(II)と錯形成し、極大吸収波長はそれぞれ586 nm、602 nm、610 nmでモル吸光係数は 5.0×10^4 、 5.5×10^4 、 $5.8 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ である。これら3つの中でモル吸光係数が最大のTAMSPBを用いてフローインジェクション法による微量銅(II)の定量を検討し、血清中の銅の定量に応用した。

試薬

血清は、ORTHO Diagnostics Inc. New Jersey U.S.A. から出されている Normal Control Serum を用いた。その他の試薬、装置等は3.1に示したとおりである。

装置と操作方法

使用した機器等及びフローダイアグラムをFig. 24に示す。又、フローインジェクションの装置は電気化学製フローインジェクションアナライザーモデルFICS-10を用いた $1.1 \times 10^{-5} \text{ M}$ TAMSPB溶液、0.05 M酢酸緩衝液を超音波洗浄器を用いて吸引する方法でガス抜きをした後それぞれ流量 1.3 ml/min . で送液し、この二つの流れが合流した後のところで $20 \sim 100 \mu\text{l}$ の試料を注入した。混合及び反応にはミキシングコイル(55~115 cm、1 mm i. d.)を使用した。光路長10 mm、容量 $8 \mu\text{l}$ のフローセルを使用し、FICSの吸光光度検出器を用い(600 nmフィルター)用いて測定した。

最適反応条件

ミキシングコイルが55 cmから115 cmと長くなるに従ってピーク高は減少した。しかし、いずれの場合も検量線は良い直線性を示した。従って定量する銅(II)の量によって適当な長さのミキシングコイルを選んだ。銅(II)-TAMSPB錯体はpH2から7までの間で一定の吸光度を示すが、pH4以下になると試薬ブランクが増大する。よって最も再現性の良いpH5.0から5.5の間で測定した。TAMSPB及び酢酸緩衝液を同じ流速で流し、それぞれの流速の影響を0.85から 1.8 ml/min . まで変えて

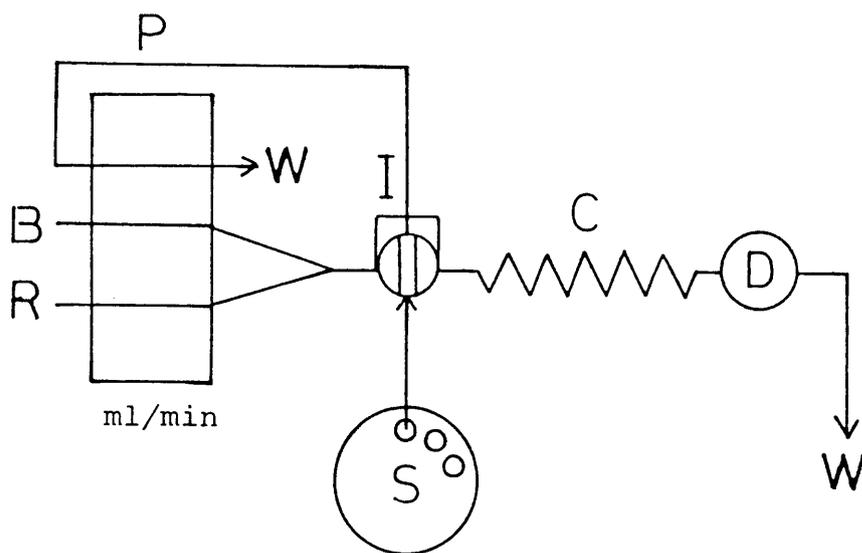


Fig. 24 Flow diagram employed with FICS analyzer

- (S) autosampler; (I) rotary sample injector; (P) peristaltic pump;
- (R) 1.1×10^{-5} M TAMSPB solution, flow rate: 1.3 ml/min;
- (B) 0.05 M acetate buffer (pH 5 - 5.3), flow rate: 1.3 ml/min;
- (C) mixing and reaction coil (1 mm i.d., 55 - 115 cm length);
- (D) spectrophotometer with 600 nm filter; (W) waste

調べた。流速 1.3 ml/min の時に最も高いピーク高が得られ、再現性も良好であった。

試料の注入容量を $20\ \mu\text{l}$ から $100\ \mu\text{l}$ まで変化させて調べた結果、いずれの場合も検量線は良い直線性を示した。従って試料中に含まれる銅(II)の濃度によって注入容量を選択した。Fig. 25にミキシングコイル長 55 cm 、サンプル容量 $100\ \mu\text{l}$ のときのチャートを示す。この条件のとき最も低濃度の銅が定量できた($5\sim 200\text{ ppb}$)

塩濃度の影響

実試料にはしばしばかなりの濃度の塩が含まれている。フローインジェクション分析法では、溶液中に含まれる塩濃度が大きな影響を与える。いわゆるゴーストピークが現われる原因となる。 $0.01\text{ M}\sim 1.0\text{ M}$ 塩化ナトリウム溶液を 0.1 M 塩化ナトリウム溶液の流れの中へ注入した場合、Fig. 26に示すような正あるいは負のゴーストピークが記録されている。Fig. 26に見られるように、キャリア液の塩濃度と注入する試料の塩濃度が同じならゴーストピークは非常に小さい(3)。又、純粋な水の流れのなかに塩化ナトリウム溶液を注入してもゴーストピークが記録される(6)。従ってTAMSPB及び緩衝液中の塩濃度を試料中に含まれる塩濃度と一致させる必要がある。そうすればたとえ塩濃度が 1 M と高くてもゴーストピークは記録されなかった。

血清中の銅(II)の定量への応用

血清試料として凍結乾燥された市販の標準血清の入っているガラス瓶へ 1 M 塩酸を 3 ml 加え、熱水中で加熱する。ここへ過ヨウ素酸カリウムを含む 20% トリクロロ酢酸 2 ml を加え、よく振りまぜ、溶液をろ過する。このろ液に固体酢酸ナトリウムを加え、 $\text{pH}5.0$ に調節した。この溶液の $20\ \mu\text{l}$ FIA装置に注入した。コイルの長さは 115 cm とした。TAMSPB溶液及び緩衝液は 1 M 塩化ナトリウムを含むように調製した。5回試料注入の測定結果から血清中に含まれている銅(II)の量は $0.93\sim 0.96\text{ ppm}$ が得られ、バソクプロイン法で得られた表示標準値 0.93 ppm と良い一致を示した。(Fig. 27)

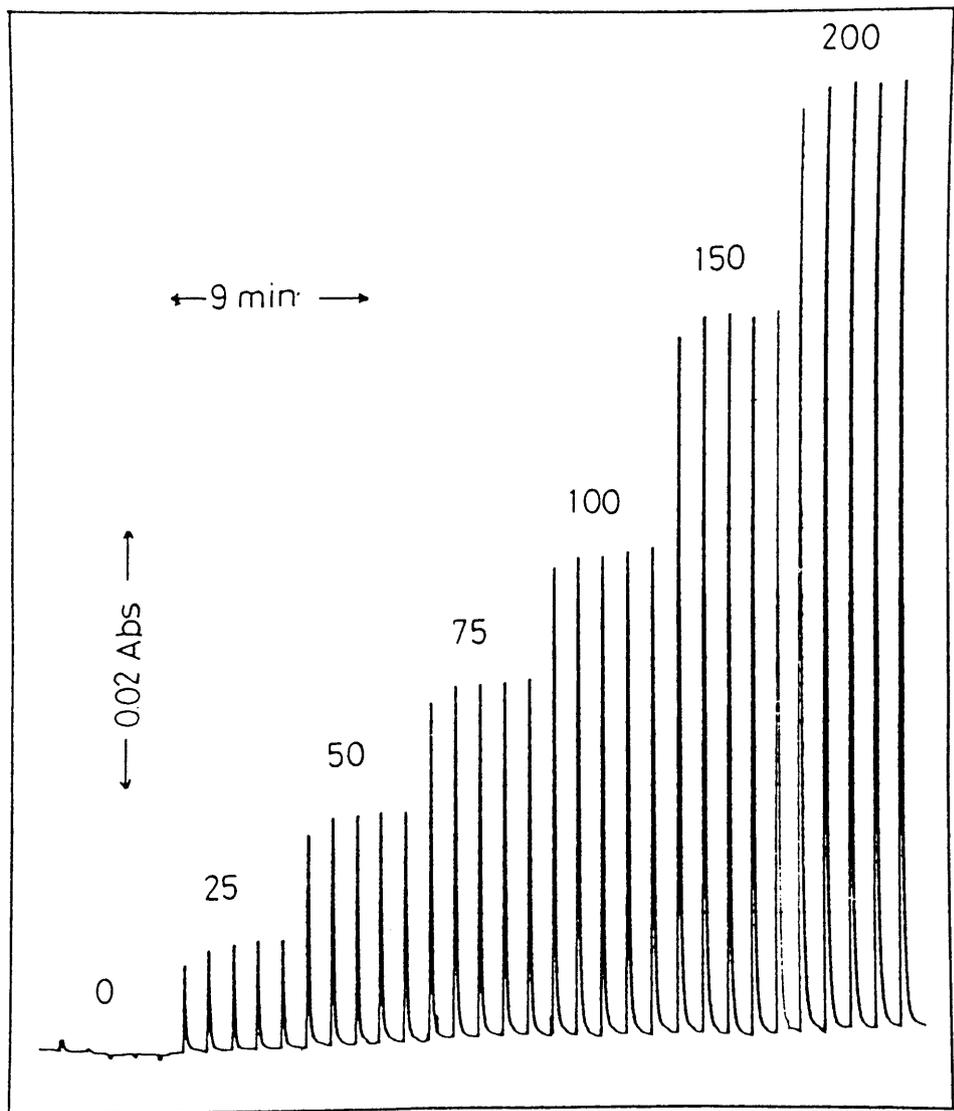


Fig. 25 Calibration graph

The numbers on the peaks correspond to ppb copper.

Mixing coil: 55 cm; sample volume: 100 μ l

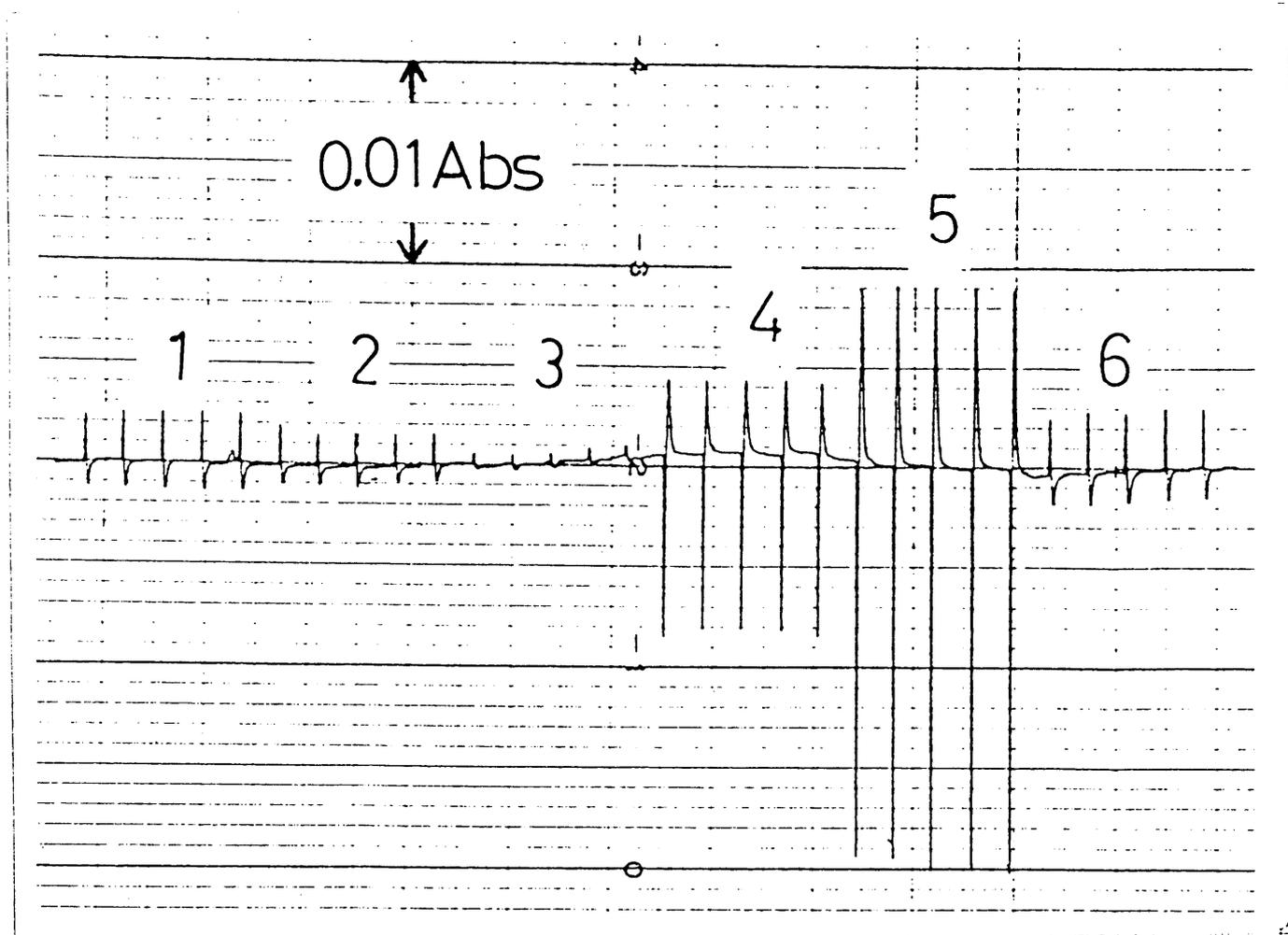


Fig. 26 Effect of salt concentration

Concentration of NaCl in solutions injected (20 μ l): (1) 0.01M; (2) 0.05 M;
 (3) 0.1 M; (4) 0.5 M; (5) 1 M; (6) 0.

NaCl concentration in TAMSPB and buffer solutions was 0.1 M,
 Mixing coil: 115 cm.

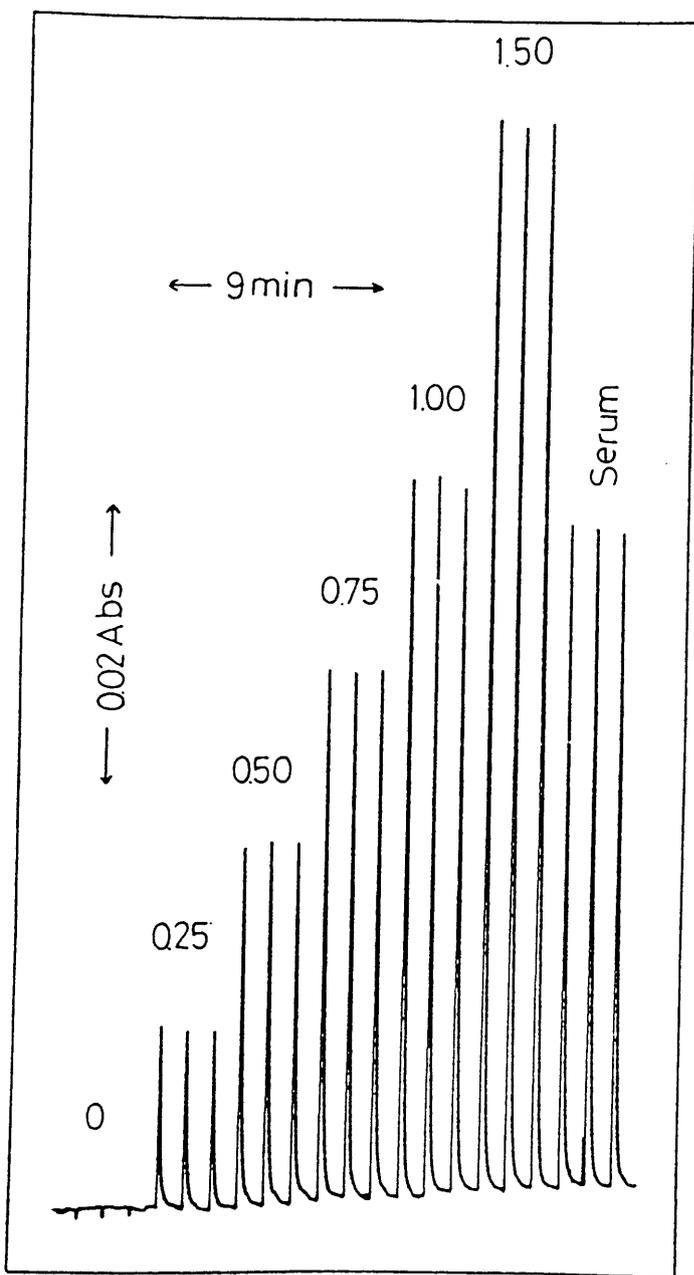


Fig. 27 Chart obtained with copper standards and serum
 The numbers on the peaks correspond to ppm copper.
 Mixing coil: 115 cm; sample volume: 20 μ l. NaCl concentration
 in TAMSMB, buffer and copper standard solutions was 1.0 M.

この方法では1時間に80回の試料注入が可能である。また、呈色試薬としてTAMSMB、TAMSEBを用いてもまったく同様な結果が得られた。

銅(II)のフローインジェクション法による定量はこれまでに幾つか報告されているが³⁶⁾⁻⁴⁰⁾、著者の開発したTAMSMB TAMS PBを用いる方法は感度が高く、広い濃度範囲にわたる銅(II)の定量ができ、測定値が安定しているなどの点で非常に優れている。

TAMSMBは血清中の銅の定量用キットとして市販され、臨床検査に盛んに使われている。このFIA法は銅鉱業所で工程管理分析にも使われている。

3.4.5 フローインジェクション分析におけるピークの形状におよぼす装置（ポンプ、ミキシングコイル、ミキシングジョイント）の影響

実際のフローインジェクション分析において、送液ポンプの型式、ミキシングコイルの巻き方、ミキシングジョイントの型式などがピークの形状に影響を与えることが知られている。

そこで装置（マニホールド）の組み立てにおいて試料の分散に影響を与える因子、すなわち送液ポンプの種類、ミキシングコイルの形状、ミキシングジョイントの形状がピークの形状に与える影響について検討した。⁴¹⁾

実験

試薬

$1.0 \times 10^{-3} \text{M}$ TAMSMB 溶液 $1.0 \times 10^{-4} \text{M}$ $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ 溶液、 $1.0 \times 10^{-4} \text{M}$ $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2$ 溶液、 0.05M $\text{CH}_3\text{COOH}-\text{CH}_3\text{COONa}$ (pH 5.0) 緩衝液、 0.05M KNO_3 溶液を用いた。

装置

フローインジェクション分析装置（マニホールド）を Fig. 28 に示す。プランジャー型ポンプとして JASCO RP-4 (1)、協和精密 KHU-W52 (2)、サヌキ工業 DM2U-2044 (ストローク 2.5 mm) (3)、DM2U-1026 (ストローク 1 mm) (4) の 4 種類およびペリスタ型ポンプとして Ismatic JP-4 (5)、Gilsonn Minipuls 2 (6)、Tecator FIA-5020 (7) の 3 種類を検討した。

ミキシングジョイントはデッドボリウムのない 2 種類について検討した。

検出器は日本分光製 UVIDE C-100 II W (応答時間 0.1 秒) を、記録計は日立製 056 型を用いた (チャートスピード 240 mm/min)。

反応チューブは半透明ビニールチューブ (内径 0.5 mm) を用い、そのまま検出器に導きマイクロフローセルブロックに固定しフローセルとした。

検出波長は 585 nm (銅(II)-TAMSMB) と 554 nm (ニッケル(II)-TAMSM B) を用いた。

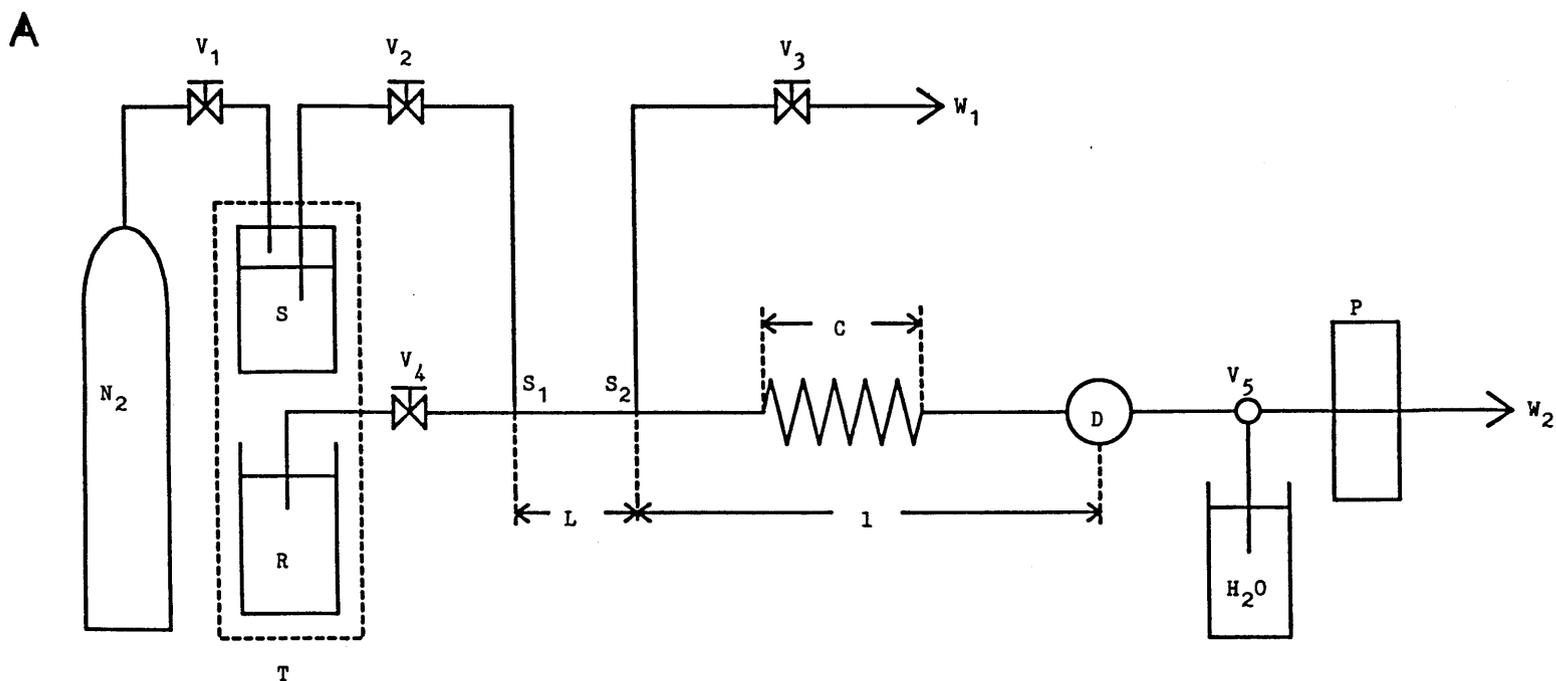


Fig. 28 Flow diagrams.

(A) S_1 - S_2 , Sample tube ($L = 15$ cm); S_2 - D ; mixing tube ($l = 75$ cm); C , coiled tube (50 cm); P , peristaltic pump; $V_1 - V_4$, two-way valve; V_5 , three-way valve; N_2 , nitrogen cylinder; D , spectrophotometer; T , thermostat (25 °C); W_1 , W_2 , waste; S , sample [10^{-4} M $Cu(NO_3)_2$ or 10^{-4} M $Ni(NO_3)_2$ + 0.05 M $CH_3COOH-CH_3COONa$ (pH 5.0) + 0.05 M KNO_3]; R , reagent solution [10^{-3} M TAMSMB + 0.05 M $CH_3COOH-CH_3COONa$ (pH 5.0) + 0.05 M KNO_3].

B

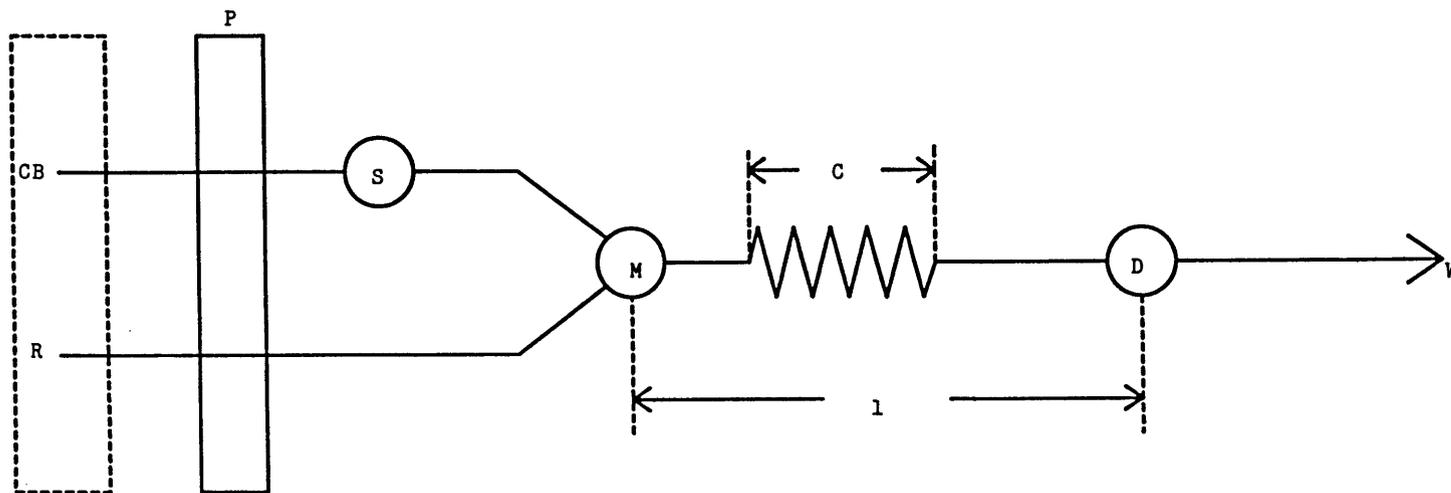


Fig.28(continued)

(B) P, pump; S, sample injector(sample loop; 15cm);
M, mixing joint; M-D, mixing tube($l=75\text{cm}$); C, coil(50cm);
D, spectrophotometer; W, waste; CB, 0.05 M $\text{CH}_3\text{COOH}-\text{CH}_3\text{COONa}$
(pH 5.0) + 0.05 M KNO_3 ; R, 10^{-3}M TAMSMB + 0.05 M $\text{CH}_3\text{COOH}-$
 CH_3COONa (pH 5.0) + 0.05 M KNO_3 ; T, thermostat(25°C).

反応チューブ以外はすべて内径0.5 mmのテフロンチューブを用いた。

実験方法

反応コイルの影響についての実験には Fig. 28(A) に示すマニホールドによった。ハイドロダイナミック インジェクション⁴²⁾により試料を注入、試料の吸引及び送液には Isnatic J P-4 ペリスタ型ポンプを用いた。

ポンプの種類及びミキシングジョイントの影響についての実験には Fig. 28(B) に示すマニホールドにより応用分光製ループインジェクター（デッドボリューム 1 μ l 以下）を用いて試料をキャリアー溶液中に注入した。試料の量は30 μ l（ループの長さ内径0.5 mm \times 1.5 cm）とした。

結果および考察

ミキシングコイルの影響

長さ7.5 cmの反応チューブの中央部分5.0 cmを直径0.4~3 cmのプラスチック管に巻きつけた反応チューブを用いて得たシグナルの形状と直線チューブを用いて得たシグナルの形状を銅(II)-TAMSMB系により比較検討した (Fig. 29)。Fig. 29 よりわかるようにコイルを小さく巻くことによってピーク幅は小さくなる。8の字形に巻いたダブルコイルを用いて得た結果とシングルコイルを用いて得た結果とを比較した (Fig. 30)。Fig. 30 からわかるように、より細かい管に8の字形に巻いた方がピーク高は高くなり、シグナルの立ち上がり部の肩も消失した。

遅い反応であるニッケル(II)-TAMSMBのピークの形状について Fig. 31 に示す。Fig. 31 からわかるように直径の小さい管に巻きつけたダブルコイル型が遅い反応には特に有効である。

流速を遅くする (0.2 ml/min) と銅 (II) - TAMSMB のピークはダブルコイルを用いた場合よりもシングルコイルを用いた方が高くなった。一方、ニッケル (II) - TAMSMB のピークの形状は双方とも大きな違いは観察されなかった。

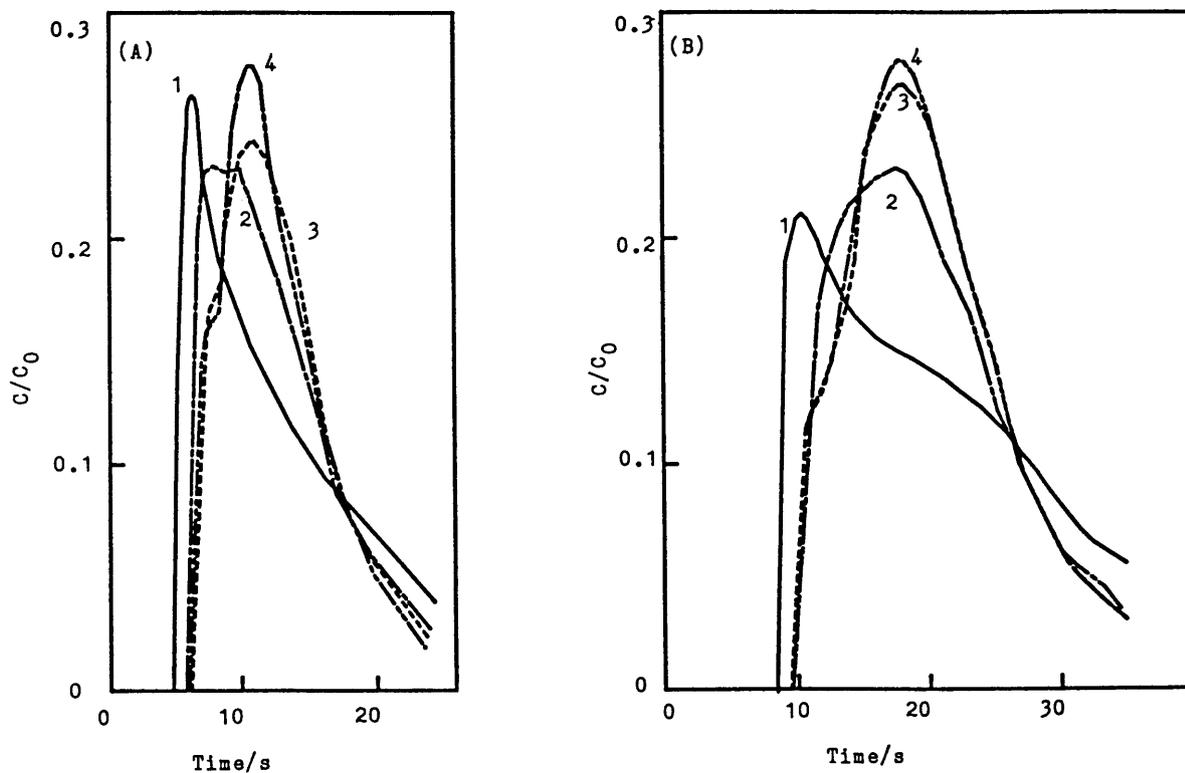


Fig. 29 Effect of mixing tube on the peak profile of Cu(II)-TAMSMB.

Flow rate (ml min⁻¹), (A) 1.0; (B) 0.6: (1) Straight tube; (2)-(4) coiled tube (single): helix diameter, (2) 3cm; (3) 2cm; (4) 1cm.

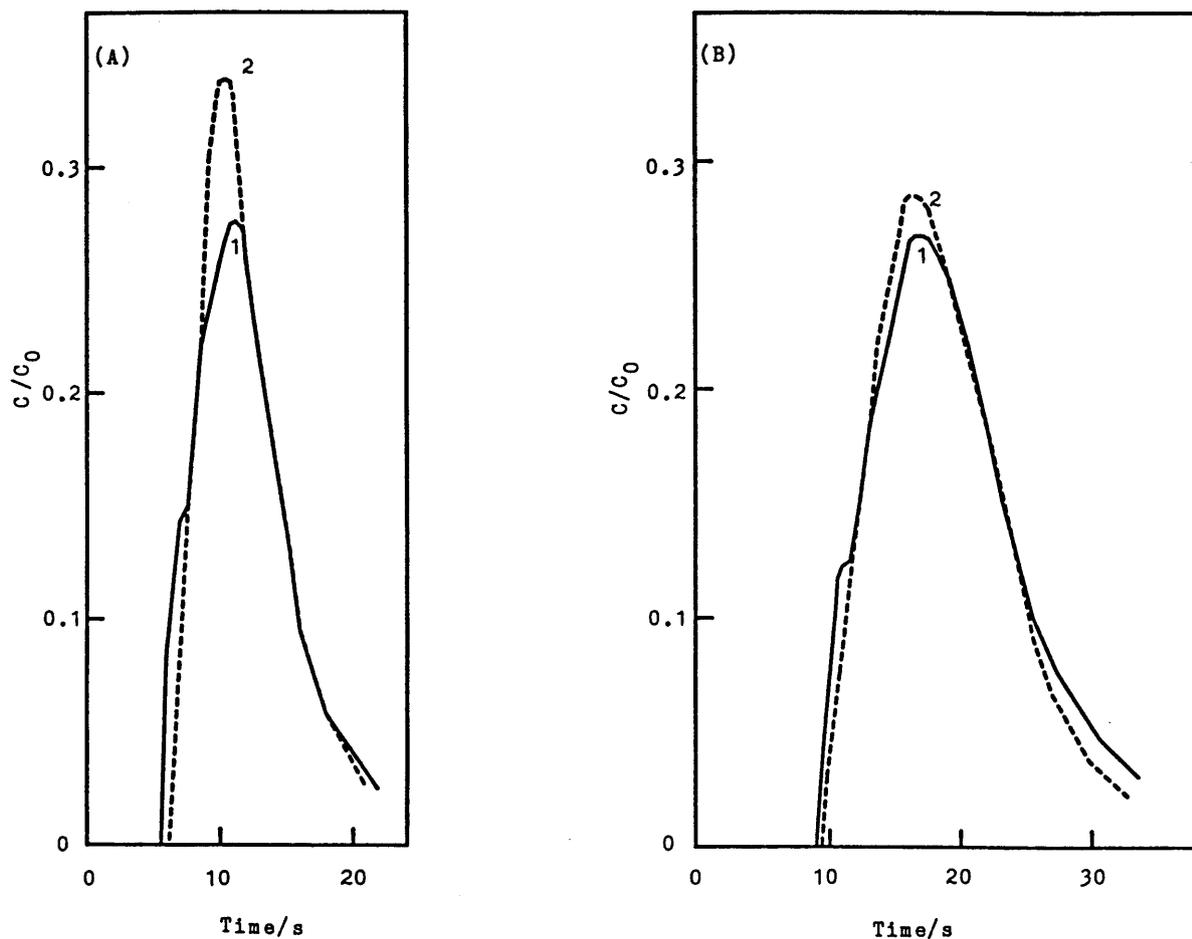


Fig. 30 Effect of coiled tube on the peak profile of Cu(II)-TAMSMB.

Flow rate (ml min⁻¹), (A) 1.0; (B) 0.6. (1) coiled tube (single); (2) coiled tube(a figure-of-eight fashion); helix diameter, (1) 0.4cm; (2) (0.4 x 2)cm.

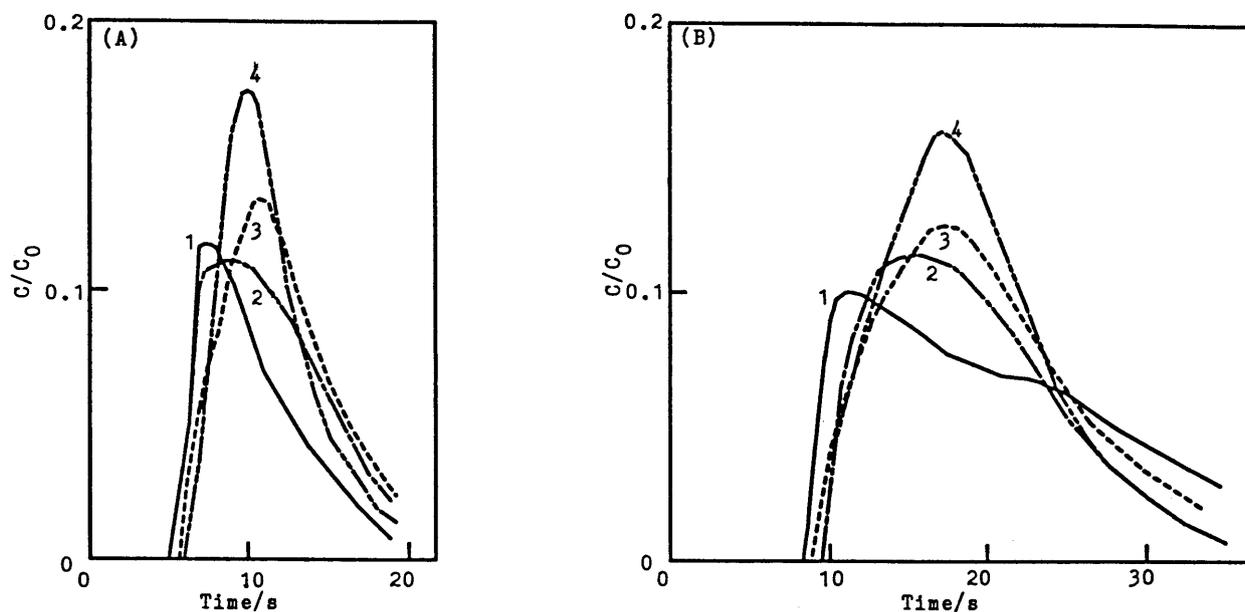


Fig. 31 Effect of mixing tube on the peak profile of Ni(II)-TAMSMB.

Flow rate (ml min^{-1}), (A) 1.0; (B) 0.6; (1) straight tube; (2), (3) coiled tube (single); (4) coiled tube in a figure-of-eight fashion; helix diameter, (2) 3cm; (3) 0.4cm; (4) (0.4cm x 2).

ポンプの影響

Fig.28(B)に示すRおよびCBから $10^{-4}\text{M Cu}(\text{NO}_3)_2$ 、 10^{-3}M TAMSMB 、 $0.05\text{M CH}_3\text{COOH}-\text{CH}_3\text{COONa}$ (pH5.0)、 0.05M KNO_3 を含む溶液およびキャリアー溶液を流すことによりポンプから生ずる脈流の影響について検討した。その結果を Fig.32 に示す。最も短いストローク(0.1mm)のプランジャー型ポンプ(ポンプ(4))およびポンプチューブ径が小さく、回転ローラーが最も遅いペリスタ型ポンプ(ポンプ(7))を用いたとき、脈流が最小になった。

ミキシングジョイントの影響

Fig.33 に示す Swagelok 型のミキシングジョイントについて検討した。一般的に、かなり大きな脈流を生ずるポンプを用いるとミキシングコイルの形状によりピークの形状が変わる(Fig.34(A))。ミキシングジョイント(II)のタイプが(I)のタイプよりもピーク高が高い。

一方、脈流の小さいポンプを用いる場合はミキシングジョイントによる影響はほとんどみられない(Fig.34(C))。また、ピーク高の変化は Fig.34(B) に示すようにダブルコイルを用いたときより小さくなる。

結論として、脈流の発生の少ないポンプ、細管に8の字形に巻きつけたダブルコイルを用いるならシャープで再現性の良いシグナルが得られ、ミキシングジョイントの形状や接続する場所によるピークの形状に与える影響は小さい。

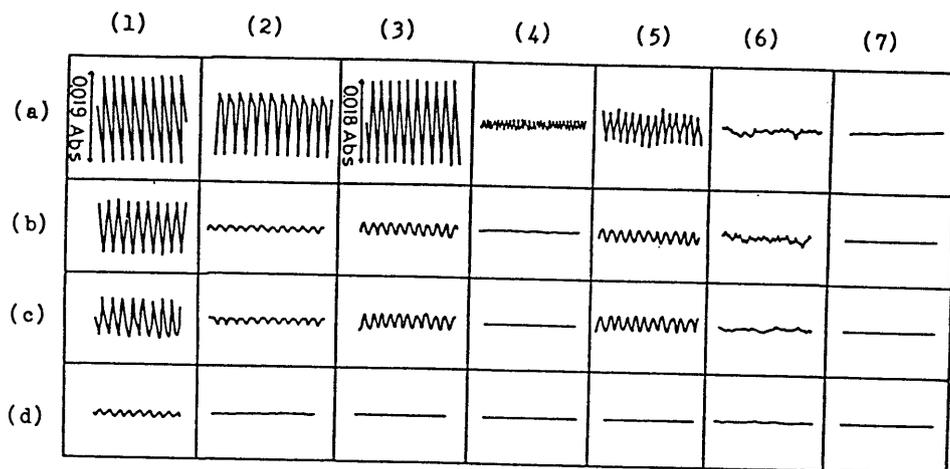


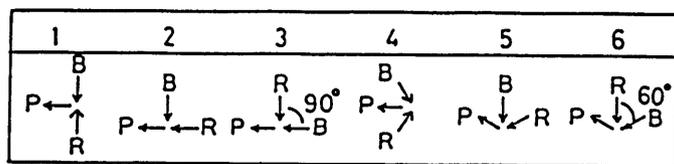
Fig. 32 Flow pulsation of pump.

(1)-(4), reciprocating pump; (5)-(7); peristaltic pump.

Mixing tube: (a) straight; (b) coiled (single); (c), (d), coiled in a figure-of-eight fashion; length (l), (a)-(c) 75 cm (50 cm coiled); (d) 145 cm (120 cm coiled).

Helix diameter, (b) 2 cm; (c), (d) (0.4 cm x 2).

Flow rate, 1.0 ml min^{-1} . The piston motion of pumps (3) and (4) is different from pumps (1) and (2).



(I)

(II)

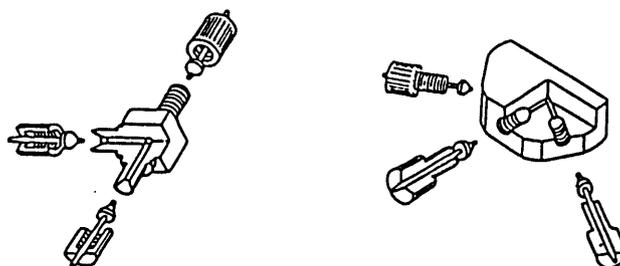


Fig. 33 Mixing joints used.

(1)-(3), (I); (4)-(6), (II). Flow: (R), TAMSMB solution;
 (B), Buffer solution(carrier) + sample, (P), mixture
 containing reaction product.

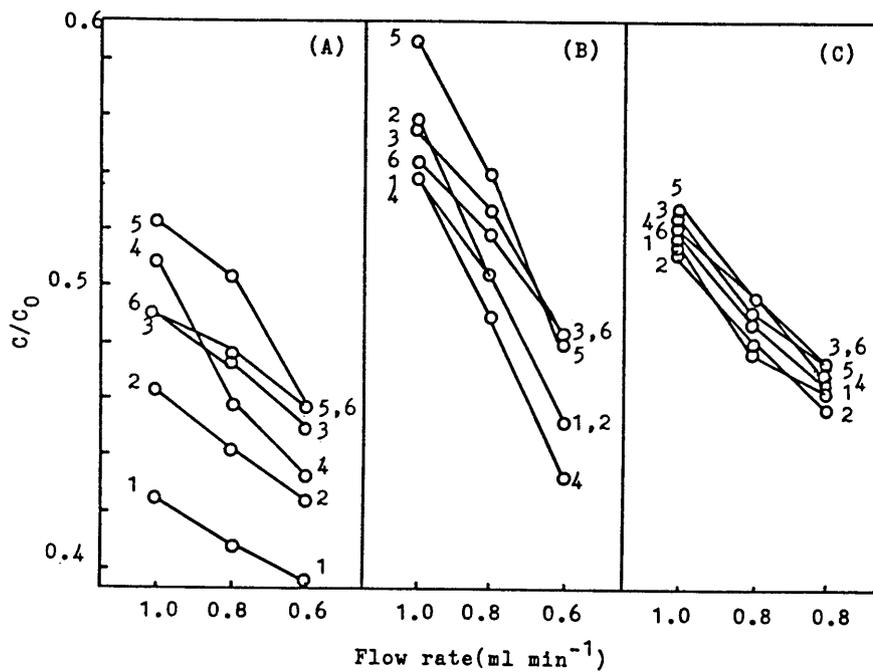


Fig. 34 Effect of mixing joint

(A),(B), pump(5); (c), pump(4). The numbers correspond to ones of joint in Fig. 6. (A),(c), coiled tube (single) with helix diameter of 2 cm; (B) using coiled tube in a figure-of-eight fashion with helix diameter of (0.4 cm x 2).

第3章 引用文献

1. S. Shibata, M. Furukawa, E. Kamata, *Anal. Chim. Acta*, 73(1974)107
2. K. Ohshita, H. Wada, G. Nakagawa, *Anal. Chim. Acta*, 124(1981)193
3. S. Shibata, M. Furukawa, K. Goto, Japan Kokai Tokkyo Koho, 1979, No. 133521(17 Oct.)
4. K. Toei, S. Motomizu, *Analyst*, 101(1976)497
5. K. Toei, S. Motomizu, *Nippon Kagaku Zasshi*, 92(1971)92
6. T. Dono, G. Nakagawa, H. Wada, *Bunseki Kagaku*, 11(1962)654
7. G. P. Hildebrand, C. N. Reilley, *Anal. Chem.* 29(1957)258
8. H. McConnell, N. Davidson, *J. Am. Chem. Soc.*, 72(1950)3164
9. 石附朋典, 和田弘子, 中川元吉, *分析化学*, 28(1979)535
10. H. Wada, T. Ishizuki, G. Nakagawa, *Anal. Chim. Acta*, 135(1982)333
11. H. Wada, T. Ishizuki, G. Nakagawa, *Bunseki Kagaku Section E*, 32(1983)225
12. H. Wada, T. Ishizuki, G. Nakagawa, *Mikrochimica Acta*[Wien]1983III, 235
L. Sommer, private communication, 1980
13. K. L. Cheng, *Anal. Chem.*, 30(1958)243
14. B. S. Jensen, *Acta Chim. Scand.*, 14(1960)924
15. 中川元吉, 和田弘子, *日化*, 83(1962)1098
16. 同上 85(1964)202
17. R. G. Anderson, G. Nickless, *Analyst*(London)92(1967)207
18. H. R. Hovind, *Analyst*(London), 100(1975)769
19. 和田弘子, 中川元吉, *分析化学*, 24(1975)239
20. G. Nakagawa, H. Wada, O. Nakazawa, *Talanta*, 23(1976)155
21. H. Wada, O. Nakazawa, H. Takada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 42(1977)210
22. S. Funahashi, S. Yamada, M. Tanaka, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 43(1970)769
23. G. Nakagawa, H. Wada, *Talanta*, 22(1975)563
24. 改訂3版分析化学データブック(1983)日本分析化学会編(丸善株式会社)
25. 田中元治, 中川元吉編, *定量分析の化学—基礎と応用—*(1987)(朝倉書店)
26. E. Kiss, *Anal. Chim. Acta*, 66(1973)385
27. O. Baudino, C. B. Marone, *Anal. Chim. Acta*, 119(1980)393

28. S. I. Gusev, L. M. Shchurova, Zh. Analit. Khim., 21(1966)1042
29. private communication
30. S. I. Gusev, N. N. Kiryukhina, Zh. Analit. Khim., 24(1969)210
31. J. Zbiral, L. Sommer, Z. Analyt. Chem. 306(1981)129
32. S. I. Gusev, N. N. Kiryukhim, Z. A. Bitovt, Zh. Analit. Khim., 23(1968)889
33. S. Shibata, M. Furukawa, Y. Ishiguro, S. Skaki, Analyt. Chim. Acta, 66(1973)385
34. F. Garcia Montelongo, C. R. Tallo Gonzalez, V. Gonzalez Diaz, Analyst, 105(1980)
762
35. H. Wada, T. Ishizuki, K. Kodama, G. Nakagawa, Mikrochim. Acta, 1983II, 139
36. A. S. Inglis, P. W. Nicholls, Microchim. Acta[Wien]1975II, 553
37. W. E. VanDenLinden, R. Costervink, Analyt. Chim. Acta, 101(1978)419
38. R. Kuroda, T. Mochizuki, K. Oguma, Bunseki Kagaku, 29(1980)T73
39. R. Kuroda, T. Mochizuki, Talanta, 28(1981)389
40. S. M. Ramasamy. H. A. Mottola, Analyt. Chim. Acta, 127(1981)39
41. H. Wada, Y. Sawa, M. Morimoto, T. Ishizuki, G. Nakagawa, Anal. Chim. Acta, 1989 in
press
42. J. Ruzicka, E. H. Hansen, Anal. Chim. Acta, 145(1983)1

第4章 キノリン環の2位にアゾ基を有する

化合物に関する研究

4.1 カルシウムの比色試薬としての 2-[2-(8-ヒドロキシキノリル)アゾ]-1-ナフトール

カルシウムの比色定量にはグリオキサリピス(2-ヒドロキシアニル)(GHA)、クロロホスホナゾIIIなどが使われている。GHAは試薬及びカルシウム錯体が不安定で溶液のpH、温度、放置時間などによってカルシウムキレート吸光度が変化する。^{1) 2)} クロロホスホナゾIIIによるマグネシウム共存下のカルシウムの定量が低いpH(2.2位)でマグネシウムの妨害なしで定量できると報告されているが、吸光度が一定になるpH範囲が非常に狭く、pHを厳密に調節しなければならない。さらに測定波長における試薬ブランクがかなり大きく感度もあまりよくない($\epsilon = 1.5 \times 10^4$)。³⁾

o-クレゾールフタレインコンプレキソン(CPC)は感度が高く($\epsilon = 6.5 \times 10^4$)、臨床分析ではオートアナライザー型流れ分析法に広く用いられている。しかし試薬ブランクが大きく、マグネシウムの妨害を除くために普通8-キノリノールを加えなければならない。^{4) 5)}

また、最近高感度、水溶性のo, o'-ジヒドロキシアゾ化合物が合成されカルシウムとマグネシウムの定量に応用されたが一般に試薬ブランクが大きいためバッチ法では良い結果が得られない。⁶⁾

水道水や天然水のカルシウムの測定はBT-Mg EDTA指示系あるいはNN指示薬を用いてEDTAで滴定することによって求めているが、カルシウムの含有量が少ない試料では滴定値が小さく、誤差が大きい。

簡単に微量カルシウムを定量できる比色試薬の開発が望まれてきた。8-キノリノール

(オキシシン)は多くの金属イオンと反応するが、カルシウムキレートは水に難溶性のためブチルアミン共存下クロロホルムに抽出し比色定量されてきた。しかし、感度が低いため微量のカルシウムの定量は不可能である。感度を向上させるために8-キノリノールの5位あるいは7位にアゾ基を導入した化合物が種々合成されているが⁷⁾⁻⁹⁾、カルシウムに対する選択性は改善されていなかった。8-キノリノールの2位にアゾ基を導入した化合物はこれまでに合成されていないが、8-キノリノールの2位にアゾナフトールを導入することによって四座配位子としてカルシウムが安定な錯体を形成し、マグネシウムに対する選択性ととも感度も向上させることができると考え、2-[8-(ヒドロキシキノリル)アゾ]-1-ナフトール(HQAN)を合成した。¹⁰⁾

以下にカルシウムの比色試薬として種々検討した結果を述べる。

4.1.1 試薬と装置

HQAN溶液： $5 \times 10^{-4} \text{M}$ 70% (v/v) ジオキサン溶液

カルシウム溶液：特級炭酸カルシウムを少し過剰の塩酸にとかし、それを水で一定量に希釈した。

マグネシウム溶液：特級硫酸マグネシウムを水に溶解した。エリオクロムブラックTを指示薬としてEDTAで滴定してマグネシウム濃度を定めた。

その他の試薬及び装置は3.1と同様である。

4.1.2 HQANの酸解離定数の決定

HQANは水に難溶性であるが、ジオキサンにはよく溶ける。ジオキサン40% (v/v) 溶液として酸解離定数を測定した。HQAN溶液の種々のpHにおける吸収曲線をFig. 35に示す。HQAN溶液のpHを1.2M塩酸、1.25Mモノクロロ酢酸-酢酸ナトリウム、1.25M酸-酢酸ナトリウム緩衝液、1.25Mアンモニア-塩化アンモニア緩衝液及びアンモニア1.1Mで0.5-1.2まで変化させた。HQAN溶液の色は、pH1.5以下では黄色であり、極大吸収波長は480nmである。pH2.5から1.0までの範囲では橙色を呈し、極大吸収波長500nm、pH10.5以上では紫色を呈し、極大吸収波長545nmを示した。

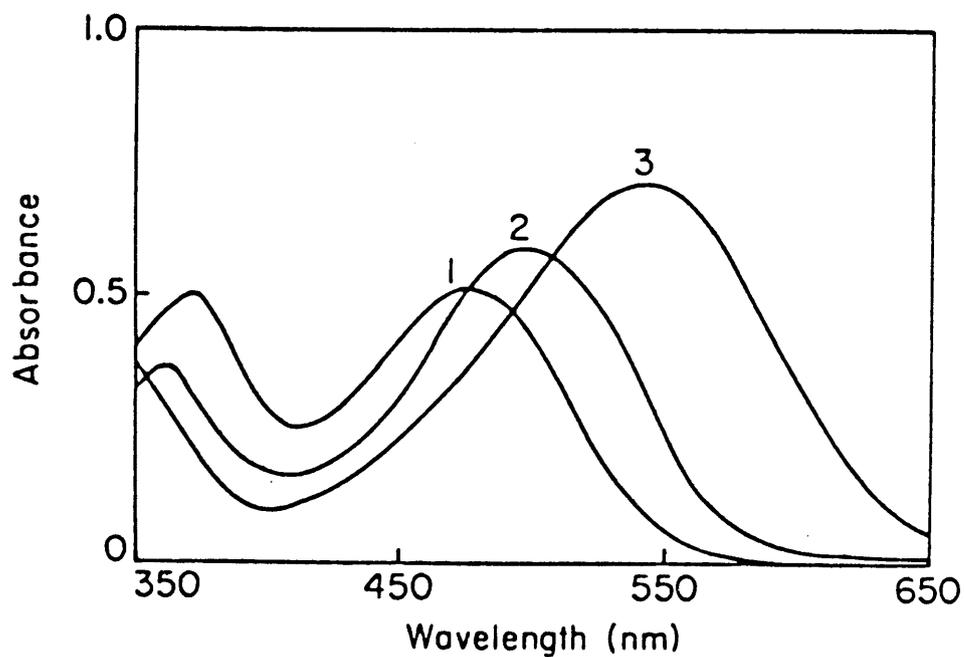
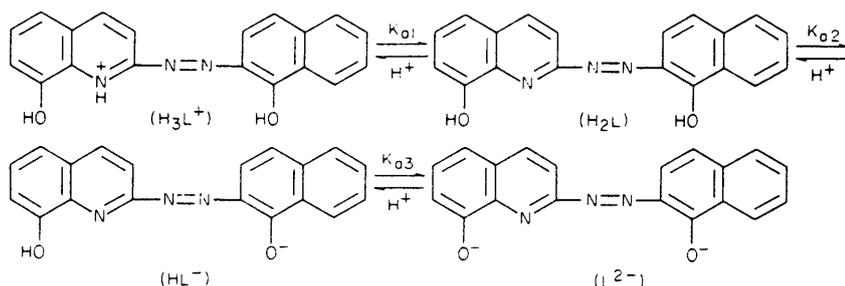


Fig. 35 Absorption spectra of HQAN at different pH:

(1) 0.5M HCl; (2) pH 8.8; (3) pH 12

Conditions: 2.84×10^{-5} M HQAN, 0.1M KNO_3 , 40% dioxane

酸解離は以下のように進行するものと考えられる。



pK_{a3} に相当するプロトン解離はpH 12以上で起こり、また HL^- から L^{2-} への色の変化は小さく、 pK_{a3} を決定することができなかった。 pK_{a1} 及び pK_{a2} をHildebrand-Reilleyの方法¹¹⁾で決定した。求めたHQANの酸解離定数を8-キノリノール(オキシシン)及び2-[2-(4-メチルキノリル)アゾ]-1-ナフトール(4-Me- α -QAN)の酸解離定数^{12) 13)}と共にTable 16に示す。

Table 16 Acidity constants at ionic strength 0.1M(KNO₃) in 40%(v/v)dioxane at 25 °C

	HQAN	8-Quinolinol ^a	4-Me- α -QAN ^b
pK_{a1}	1.74	3.97	2.55
pK_{a2}	10.41	11.54	10.63
pK_{a3}	>12		

^aRef. [12](50% dioxane). ^bRef. [13](50% dioxane)

キノリン環窒素の塩基性はHQANの $pK_{a1}=1.74$ 、4-Me- α -QANの $pK_{a1}=2.55$ が示すように、キノリン環の2位にアゾ基が存在すると8-キノリノールの $pK_{a1}=3.97$ と比較して大幅に塩基性が減少し、小さくなっている。4-Me- α -QANはナフトール環の水酸基のプロトンが解離することにより、橙色から紫色に変色する。この平衡での pK_a 値は10.63であり、HQAN溶液の色が橙色から紫色に変わ

る平衡 $H_2L \rightleftharpoons HL^- + H^+$ の $pK_{a2} = 10.41$ と近い値を示している。従ってHQANの pK_{a2} に相当するプロトン解離はナフトール環の水酸基のプロトン解離であると考えられ、HQANのキノリン環の水酸基のプロトン解離はpH 12以上であると考えられ、8-キノリノールの $pK_{a2} = 11.54$ よりも大きい。HQANのキノリン環のN及び水酸基のO、アゾのNの一つとナフトール環の水酸基のOが金属に配位すると考えられる。なおHQAN溶液はジオキサン70% (v/v) 中で少なくとも室温で一ヵ月安定であった。

4.1.3. HQANと金属イオンとの反応

Table 17 Reaction of some metal ions ($C_L = 2.8 \times 10^{-5} M$, $C_M = 4.0 \times 10^{-4} M$)

Metal ion added	pH ^a	Color	λ_{max}	$\epsilon \times 10^{-4}$ ($l \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)
Ca(II)	8	Violet	570	2.4
Mg(II)	9	Violet	570	2.3
Sr(II)	9	Violet	568	2.4
Ba(II)	9.5	Violet	572	2.4
Mn(II)	5.5	Blue-violet	578	2.0
Fe(III)	1	Dark-violet	530, 670	1.6(530nm)
Zn(II)	5.5	Blue-violet	574, 618	2.4(618nm)
Cd(II)	4	Blue-violet	578, 611	3.0(611nm)
Hg(II)	2	Blue	586, 622	2.9(622nm)
Pb(II)	3.5	Blue-green	622	2.4

^apH at ca. 50% reaction.

Table 17 に示すようにHQANは多くの金属イオンと反応して紫から青色を呈する。アルミニウムはオキシシと反応することはよく知られているが、HQANはアルミニウムと呈色を示さなかった。また4--Me-- α --QANも、又多くの金属イオンと反応するがカルシウムとは反応しない

4.1.4 カルシウム-HQAN錯体の組成と感度

HQANはカルシウムと1:1錯体を生成し、pH8.5以上で紫色($\lambda = 570 \text{ nm}$)を呈する。極大吸収波長でのモル吸光係数は $2.4 \times 10^4 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ である。

Fig. 36にカルシウム-HQAN錯体の吸収スペクトルを示す。カルシウム-HQAN錯体の極大吸収波長570 nmでは試薬ブランクが大きいので若干感度は下がるが試薬ブランクの小さい610 nmで定量することとした。

4.1.5 ジオキサン濃度の影響

HQANおよびそのカルシウムキレートは水に難溶なためジオキサン溶液として測定しなければならない。ジオキサン濃度を40% (v/v)から64% (v/v)まで変化させてその影響を調べた。ジオキサンが増えると吸光度は増大し64% (v/v)で40% (v/v)の7%程大きくなった。ジオキサン50% (v/v)溶液で測定した。

4.1.6 試薬濃度の影響

カルシウムに対して10倍量以上過剰の試薬が存在すれば一定の吸光度が得られた。しかし、試薬濃度を大きくするとそれにつれて試薬ブランクも大きくなるのでカルシウム $3.0 \times 10^{-6} \text{ M} \sim 1.2 \times 10^{-5} \text{ M}$ の定量に $7.1 \times 10^{-4} \text{ M}$ HQAN 5 mlを用いた。

4.1.7 pHの影響

Fig. 37に示すようにカルシウム-HQAN錯体の吸光度はpH8.5以上で一定となる。しかし、pH9.5以上になると試薬が橙色から紫色に変化し試薬ブランクが増大する。従って、試薬ブランクの小さい位pH範囲は8.5~9.0が最適であった。

4.1.8 妨害

マグネシウムはカルシウムより高いpHでHQANと反応する。pH<9すなわちpH8.6では $1.4 \times 10^{-5} \text{ M}$ (0.34 mg/l)以下のマグネシウムはカルシウムの測定波長610 nmの吸光度に影響を与えなかった。

通常の飲料水中に存在する程度の量の他の金属イオンのマスキングについて検討した。結

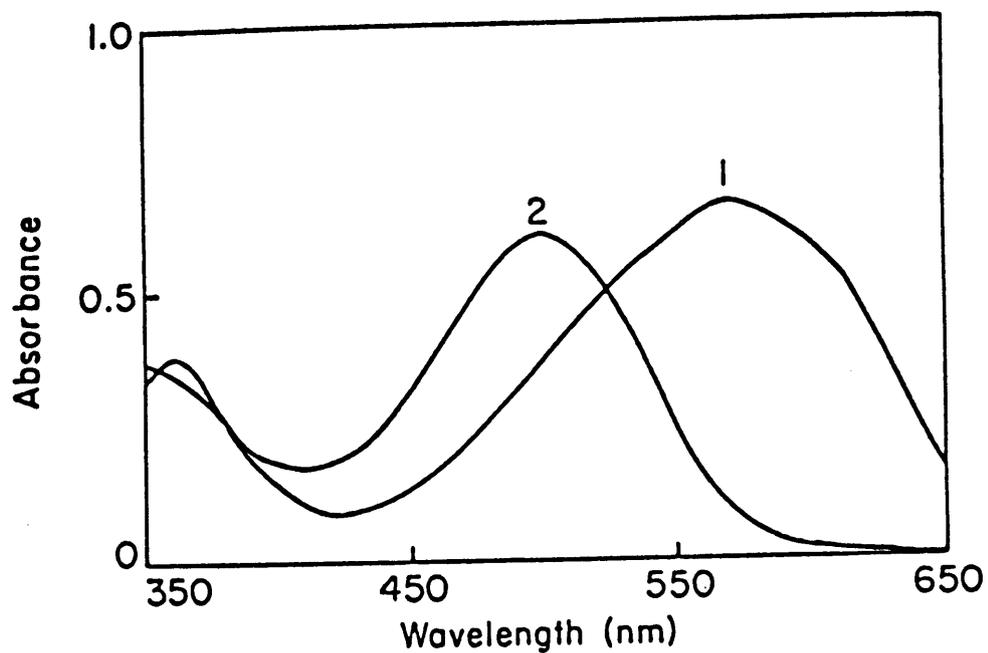


Fig.36 Absorption spectra of Ca/HQAN and reagent: (1) calcium chelate; (2) reagent, Conditions $2.84 \times 10^{-5} \text{M}$ HQAN, $1.84 \times 10^{-4} \text{M}$, pH 8.8 40% dioxane

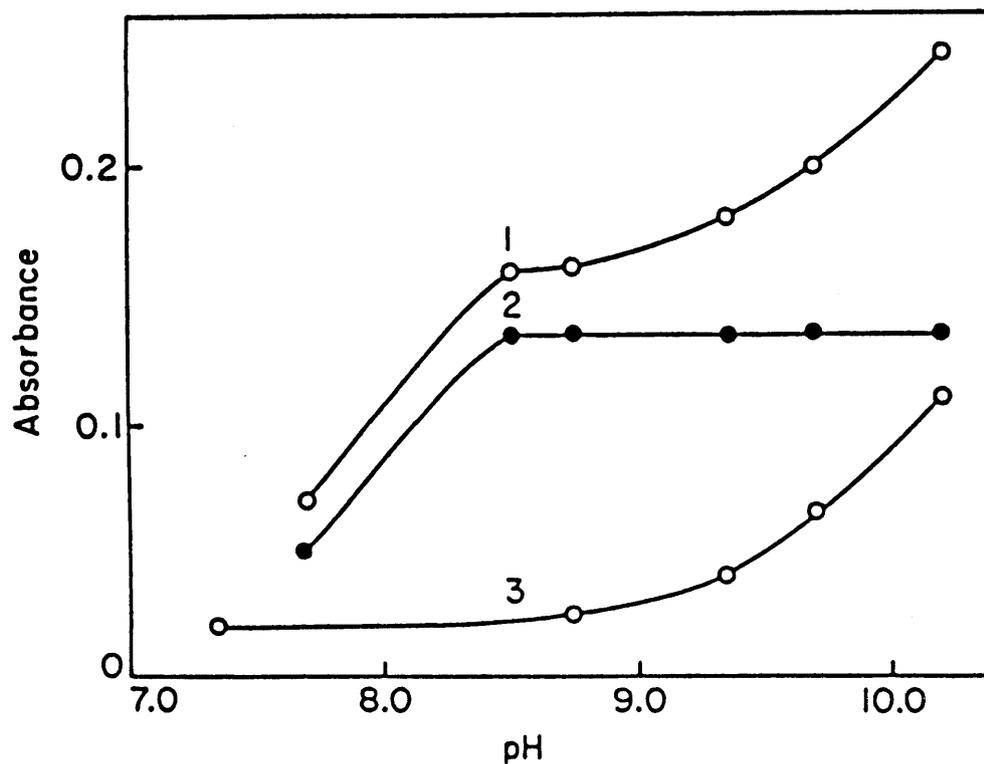


Fig.37 pH dependence of the Ca/HQAN chelate formation:(1) Ca/HQAN against water;(2)Ca/HQAN against reagent;(3)reagent blank. Condition: $1.17 \times 10^{-4} \text{M}$ HQAN, $6.02 \times 10^{-6} \text{M}$ calcium, 50% dioxane

Table 18

Absorbances at 610nm of metal-HQAN chelates in the presence of masking agents (pH 8.6)^a

Masking agent ^b (1%, 1ml)	Mn(II)(M)	Fe(II) ^c (M)	Ni(II)(M)	Cu(II)(M)	Zn(II)(M)	Pb(II)(M)
	5.9×10^{-6}	7.3×10^{-6}	6.0×10^{-6}	5.8×10^{-6}	8.8×10^{-6}	6.5×10^{-6}
none	0.165	0.087	0.195	0.022	0.250	0.143
o-Phen	0.135	0.160	0.000	0.022	0.055	0.128
En	0.143	0.000	0.025	-	0.195	0.133
AA	0.180	0.160	0.132	0.038	0.200	0.150
TEA	0.155	0.138	-	-	-	-
DTCS	0.165	0.170	0.000	0.010	0.058	0.010
Trien	0.130	0.146	0.033	0.000	0.000	0.116
Thiourea	0.157	0.007	0.170	0.019	0.187	0.127
MPA	0.167	0.111	0.207	0.000	0.077	0.132
DMP	0.026	0.016	0.000	0.000	0.000	0.000

a Abbreviations: o-Phen, o-phenanthroline; En, ethylenediamine; AA, acetylacetone; TEA, triethanolamine; DTCS, N-(dithiocarboxy)sarcosine; Trien, triethylenetetramine; MPA, 2-mercaptopropionic acid; DMP, 2,3-dimercapto-1-propanol. b In the presence of each masking agent at the concentration

examined, calcium(9.04×10^{-6} M) formed the HQAN chelate completely. c When

Fe(III) was added, no interference was observed up to 2.1×10^{-6} M. At higher than that concentration Fe(III) hydroxide precipitated.

4.1.10 飲料水中のカルシウムの定量

本法を水道水中及び井戸水中のカルシウムの定量に応用した。採取してきた試料の 0.5~1.5 ml をとり、 $7.1 \times 10^{-4} \text{M}$ HQAN 5 ml を加え、pH を 8.6 に調節し、水を対照として吸光度を測定した。結果を Table 19 に示した。

Table 19 Determination of calcium in potable water^a

Sample	Calcium	(A. a. s.)	Magnesium
			(EDTA titn.)
Tap water 1	6.01	6.01	1.0
2	4.80	4.85	0.8
3	5.55	5.41	0.9
4	5.04	-	0.7
5	7.42	-	1.1
Well water 1	6.09	6.11	1.5
2	24.65	25.05	2.3

^aAll results are given as mg l^{-1}

Well water 2 はカルシウムの含有量が多く、試料を水で2倍に希釈した。Table 19からわかるように、原子吸光光度法により求めた値とよい一致を示しており、共存するマグネシウムの影響は見られなかった。従ってこの方法は飲料水中のカルシウムの定量法として優れているものと考えられる。

又、HQANはカルシウムのキレート滴定の指示薬としても優れており、光度滴定の結果を Fig. 38 に示す。又、肉眼で終点を判別する方法でも紫から橙色への変化は鋭敏であった。試薬及びカルシウム錯体共に安定である。

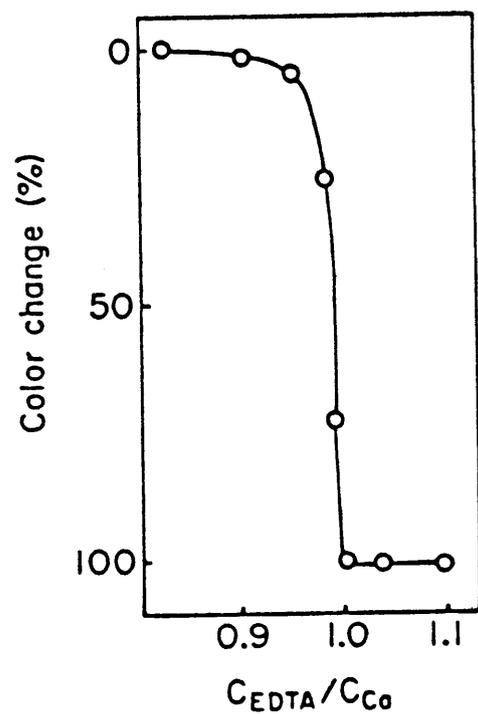


Fig.38 Photometric titration curve of $1.51 \times 10^{-3} \text{M}$ calcium with $3 \times 10^{-5} \text{M}$ HQAN as indicator at pH 9; absorbance measured at 570 nm.

第4章 文献

- 1) H.G.C.King and G.Purdenn, *Analyst*(London), 94(1969)39
- 2) I.Iwasaki, M.Yoshida and S.Yoshida, *Bunseki Kagaku*, 20(1971)302
- 3) J.W.Ferguson, J.J.Richard, J.W.O'Laughlin and C.V.Banks, *Anal. Chem.*, 36(1964)796
- 4) B.C.R.Sarkar and U.P.S.Chauham, *Anal. Biochem.*, 20(1967)155
- 5) K.Oguma, S.Ishino and R.Kuroda, *Bunseki Kagaku*, 33(1984)280
- 6) H.Wada, G.Nakagawa and K.Ohshita, *Anal. Chim. Acta*, 159(1984)289
- 7) J.S.Friz, W.J.Lame and A.S.Bystoff, *Anal. Chem.*, 29(1957)821
- 8) A.I.Cherkesov, *Zh. Anal. Khim.*, 25(1970)466
- 9) S.I.Gusev, E.M.Nikoloeva, E.A.Pirozhkova, *Zh. Anal. Khim.*, 30(1975)376
- 10) T.Ishizuki, K.Kodama, H.Wada and G.Nakagawa, *Anal. Chim. Acta*, 176(1985)63
- 11) G.P.Hildebrand, C.N.Reilley, *Anal. Chem.* 29(1957)258
- 12) W.D.Johnston and H.Freiser, *J. Am. Chem. Soc.*, 74(1952)5239
- 13) A.Kawase, *Bunseki Kagaku*, 16(1967)569

第5章 アセチルアセトンのアゾ化合物に 関する研究

すでにBudesinskyら¹⁾は4-アミノアンチピリンとアセチルアセトンから赤色アゾ色素(Azono 1 A)を合成し、Azono 1 Aの性質及びその金属イオンとの反応について検討し報告した。BudesinskyはAzono 1 Aは下記の構造をとると推論している。

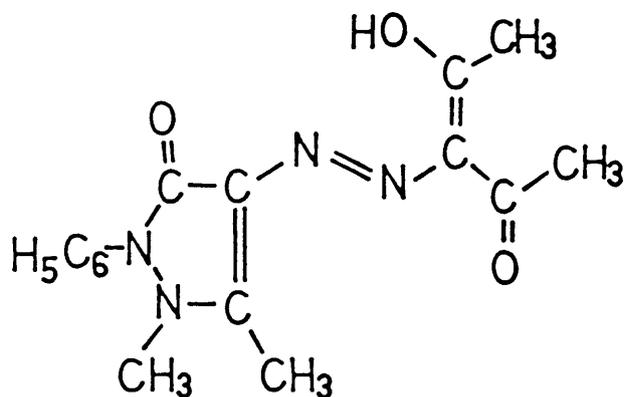


Fig. 39

一方、Morganら²⁾は、それより以前に4-アミノアンチピリンとアセチルアセトンから黄色のアゾ化合物を得、Fig. 39の構造式を与えた。

Budesinskyらの報告によれば赤色のアゾ化合物Azono 1 Aは強酸性下で種々の金属イオンと反応し、分析化学上興味深い性質を有する。著者は³⁾、4-アミノアンチピリンとアセチルアセトンとから上記のAzono 1 Aの合成を試みたところ反応条件の違いにより黄色と赤色の2種類のアゾ化合物を得た。黄色のアゾ化合物がFig. 39の構造をとることは元素分析及びマススペクトルから明らかとなった。また赤色のアゾ化合物の構造をX-線解析によりその構造を決定し、Fig. 39の黄色化合物とは異なる構造をとることを明らかにした。

同様な合成法を用いて、2-アミノチアゾールとアセチルアセトンから2種類のアゾ化合物を得、黄色のアゾ化合物が通常のアゾ化合物の構造をとり、赤色のアゾ化合物は

Fig. 40の化合物と類似の構造をとることも明らかにした。

4-アミノアンチピリンとアセチルアセトンから合成したアゾ化合物のうち、赤色アゾ化合物をAzonol A-1, 黄色アゾ化合物をAzonol A-2、同様に2-アミノチアゾールとアセチルアセトンからできる赤色アゾ化合物をTAA-1, 黄色アゾ化合物をTAA-2と略記する。

又、2-アミノフェノール、2-アミノナフトールとアセチルアセトンからは黄色のアゾ化合物のみが得られ、赤色アゾ化合物は得られなかった。

5.1 試薬と装置

Azonol A-1 溶液: $5 \times 10^{-4} \text{M}$ 70% (v/v) エタノール溶液

Azonol A-2 溶液: $1 \times 10^{-3} \text{M}$ 25% (v/v) エタノール溶液

TAA-1 溶液: $1 \times 10^{-3} \text{M}$ 50% (v/v) ジオキサン溶液

TAA-2 溶液: $1 \times 10^{-3} \text{M}$ 25% (v/v) エタノール溶液

とした。これらの試薬溶液は少なくとも一ヵ月間は安定であった。

pH緩衝液: pH < 3は塩酸-塩化カリウム溶液あるいは適当な濃度の塩酸、pH 3~6.5は0.02M 2-(N-モルフォリノ)エタンスルホン酸(MES-水酸化ナトリウム溶液)、pH 6.5-8.0は0.02M 3-(N-モルフォリノ)プロパンスルホン酸-水酸化ナトリウム溶液、pH > 8は0.02M 炭酸水素ナトリウム-炭酸ナトリウム溶液を用いて調節した。

金属イオン溶液はそれぞれの金属の特級硝酸塩を溶かして調製した。

イオン強度は先に述べた硝酸カリウムを用いて0.1Mに調節した。吸光度及びpHの測定には前記の装置を用いた。又、X-線装置はRigaku AFC-5Rを用い、実際の解析はシオノギ製薬株式会社 城始勇博士が行なった。

5.2 Azonol A-1の構造

先に述べた方法で合成されたAzonol A-1とAzonol A-2は明らかに異なった性質を示す。マススペクトルの測定及び元素分析の結果からはAzonol A-1の構造を明らかにできなかった。そこでAzonol A-1の単結晶を作り、X-線による結晶構造の解析を行なったところ、Budesinskyらにより提案されている構造と異なった構

造をとることが明らかになった。AzonolA-1の構造をFig. 40に示す。各結合の距離及び角度はTable 20に示す。

Table 20-1 Crystal data for AzonolA-1

formula	$C_{25}H_{26}N_8O_3 \cdot 2H_2O$
formula weight	522.5656
crystal system	monoclinic
space group	P2 /C
<u>a</u> , Å	6.126(1)
<u>b</u> , Å	29.669(3)
<u>c</u> , Å	14.543(1)
α , deg	90.00(0)
β , deg	91.46(1)
γ , deg	90.00(0)
<u>Z</u>	4
density calcd, g/cm ³	1.313
radiation	Cu k α ($\lambda = 1.54178 \text{ \AA}$)
data collection method	ω -2 θ
T, °C	25
no. of reflections used in the last stage of least-square refinement	3021
<u>R</u>	0.056

Table 20-2 Bond lengths and angles

BOND LENGTHS (Å)				SIGMA				BOND ANGLES (DEGREE)				SIGMA				
C1	C2	1.442	0.004					C2	C1	C5	107.8	0.3				
C1	C5	1.396	0.004					C2	C1	N15	131.6	0.3				
C1	N15	1.376	0.004					C5	C1	N15	120.6	0.3				
C2	C1	1.442	0.004					C1	C2	N3	104.6	0.3				
C2	N3	1.393	0.004					C1	C2	O6	133.3	0.3				
C2	O6	1.224	0.004					N3	C2	O6	122.1	0.3				
N3	C2	1.393	0.004					C2	N3	N4	109.2	0.3				
N3	N4	1.394	0.004					C2	N3	C7	123.6	0.3				
N3	C7	1.443	0.004					N4	N3	C7	119.3	0.3				
N4	N3	1.394	0.004					N3	N4	C5	109.3	0.3				
N4	C5	1.327	0.004					N3	N4	C13	121.4	0.3				
N4	C13	1.450	0.007					C5	N4	C13	127.6	0.3				
C5	C1	1.396	0.004					C1	C5	N4	109.0	0.3				
C5	N4	1.327	0.004					C1	C5	C14	129.1	0.3				
C5	C14	1.487	0.004					N4	C5	C14	121.9	0.3				
O6	C2	1.224	0.004													
C7	N3	1.443	0.004					N3	C7	C8	119.4	0.3				
C7	C8	1.361	0.004					N3	C7	C12	118.9	0.3				
C7	C12	1.384	0.005					C8	C7	C12	121.6	0.3				
C8	C7	1.361	0.004					C7	C8	C9	119.3	0.3				
C8	C9	1.371	0.004					C7	C8	H8	119.5	2.2				
C8	H8	0.963	0.037					C9	C8	H8	121.0	2.2				
C9	C8	1.371	0.004					C8	C9	C10	120.7	0.3				
C9	C10	1.365	0.005					C8	C9	H9	119.4	2.7				
C9	H9	0.925	0.044					C10	C9	H9	119.9	2.7				
C10	C9	1.365	0.005					C9	C10	C11	120.0	0.3				
C10	C11	1.367	0.006					C9	C10	H10	118.8	2.6				
C10	H10	0.965	0.044					C11	C10	H10	121.1	2.6				
C11	C10	1.367	0.006					C10	C11	C12	120.6	0.4				
C11	C12	1.392	0.006					C10	C11	H11	119.6	2.6				
C11	H11	0.959	0.044					C12	C11	H11	118.0	2.6				
C12	C7	1.384	0.005					C7	C12	C11	117.8	0.3				
C12	C11	1.392	0.006					C7	C12	H12	119.3	2.6				
C12	H12	0.956	0.044					C11	C12	H12	122.8	2.6				
C13	N4	1.450	0.007					N4	C13	H13	102.6	2.6				
C13	H13	0.959	0.044					N4	C13	H13	94.6	3.8				
C13	H13	0.910	0.060					N4	C13	H13	112.2	2.5				
C13	H13	1.016	0.044					H13	C13	H13	136.6	4.6				
								H13	C13	H13	122.1	3.6				
								H13	C13	H13	85.8	4.5				
C14	C5	1.487	0.004					C5	C14	H14	109.1	1.6				
C14	H14	1.089	0.031					C5	C14	H14	113.3	1.9				
C14	H14	0.937	0.031					C5	C14	H14	116.7	1.7				
C14	H14	1.031	0.031					H14	C14	H14	90.4	2.5				
								H14	C14	H14	114.9	2.4				
								H14	C14	H14	109.6	2.5				

N15	C1	1.376	0.004						
N15	N16	1.295	0.004	C1	N15	N16	115.6	0.3	
N16	N15	1.295	0.004						
N16	C17	1.394	0.004	N15	N16	C17	114.0	0.3	
C17	N16	1.394	0.004						
C17	C18	1.492	0.004	N16	C17	C18	115.1	0.3	
C17	N21	1.315	0.004	N16	C17	N21	131.8	0.3	
				C18	C17	N21	113.2	0.3	
C18	C17	1.492	0.004						
C18	O19	1.219	0.004	C17	C18	O19	120.4	0.3	
C18	C20	1.484	0.005	C17	C18	C20	118.6	0.3	
				O19	C18	C20	120.9	0.3	
O19	C18	1.219	0.004						
C20	C18	1.484	0.005						
C20	H20	0.958	0.037	C18	C20	H20	106.5	2.2	
C20	H20	0.937	0.044	C18	C20	H20	105.6	2.7	
C20	H20	0.957	0.037	C18	C20	H20	114.9	2.2	
				H20	C20	H20	113.1	3.5	
				H20	C20	H20	104.3	3.1	
				H20	C20	H20	112.5	3.5	
N21	C17	1.315	0.004						
N21	N22	1.323	0.004	C17	N21	N22	120.0	0.3	
N22	N21	1.323	0.004						
N22	C23	1.391	0.004	N21	N22	C23	120.9	0.3	
N22	H22	0.846	0.031	N21	N22	H22	121.8	2.1	
				C23	N22	H22	116.9	2.1	
C23	N22	1.391	0.004						
C23	C24	1.419	0.004	N22	C23	C24	118.7	0.3	
C23	C27	1.366	0.004	N22	C23	C27	132.0	0.3	
				C24	C23	C27	109.2	0.3	
C24	C23	1.419	0.004						
C24	N25	1.392	0.004	C23	C24	N25	105.3	0.3	
C24	O28	1.237	0.004	C23	C24	O28	129.5	0.3	
				N25	C24	O28	125.1	0.3	
N25	C24	1.392	0.004						
N25	N26	1.402	0.004	C24	N25	N26	109.0	0.3	
N25	C29	1.424	0.004	C24	N25	C29	124.3	0.3	
				N26	N25	C29	119.7	0.3	
N26	N25	1.402	0.004						
N26	C27	1.378	0.004	N25	N26	C27	107.2	0.3	
N26	C35	1.449	0.004	N25	N26	C35	117.1	0.3	
				C27	N26	C35	123.8	0.3	
C27	C23	1.366	0.004						
C27	N26	1.378	0.004	C23	C27	N26	108.6	0.3	
C27	C36	1.492	0.004	C23	C27	C36	131.6	0.3	
				N26	C27	C36	119.8	0.3	
O28	C24	1.237	0.004						
C29	N25	1.424	0.004						
C29	C30	1.390	0.004	N25	C29	C30	118.1	0.3	
C29	C34	1.385	0.004	N25	C29	C34	121.3	0.3	
				C30	C29	C34	120.6	0.3	
C30	C29	1.390	0.004						
C30	C31	1.386	0.005	C29	C30	C31	119.3	0.3	
C30	H30	0.897	0.031	C29	C30	H30	115.8	2.0	
				C31	C30	H30	124.9	2.0	
C31	C30	1.386	0.005						
C31	C32	1.378	0.005	C30	C31	C32	120.3	0.3	
				C30	C31	H31	117.6	2.5	

C31	H31	1.006	0.044	C32	C31	H31	122.0	2.5
C32	C31	1.378	0.005	C31	C32	C33	120.2	0.3
C32	C33	1.371	0.005	C31	C32	H32	121.4	2.6
C32	H32	0.972	0.044	C33	C32	H32	118.4	2.6
C33	C32	1.371	0.005	C32	C33	C34	120.7	0.3
C33	C34	1.390	0.004	C32	C33	H33	116.1	2.1
C33	H33	0.995	0.037	C34	C33	H33	123.2	2.1
C34	C29	1.385	0.004	C29	C34	C33	118.9	0.3
C34	C33	1.390	0.004	C29	C34	H34	119.9	1.6
C34	H34	1.134	0.031	C33	C34	H34	121.1	1.6
C35	N26	1.449	0.004	N26	C35	H35	109.6	2.3
C35	H35	0.929	0.037	N26	C35	H35	112.0	2.1
C35	H35	1.023	0.037	N26	C35	H35	110.3	2.7
C35	H35	0.794	0.037	H35	C35	H35	99.0	3.1
				H35	C35	H35	114.5	3.5
				H35	C35	H35	111.0	3.4
C36	C27	1.492	0.004	C27	C36	H36	114.5	2.2
C36	H36	0.804	0.031	C27	C36	H36	113.3	2.0
C36	H36	1.038	0.037	C27	C36	H36	113.2	1.8
C36	H36	0.977	0.031	H36	C36	H36	84.9	3.0
				H36	C36	H36	120.0	2.8
				H36	C36	H36	107.3	2.7
037	H37	1.214	0.059	H37	037	H37	96.5	3.9
037	H37	1.260	0.059					

TORSION ANGLES (DEGREE)

THE SIGN OF THE ANGLE IS DEFINED BY THE RIGHT-HAND RULE.

SIGMA

C5	C1	C2	N3	2.1	0.3
C5	C1	C2	O6	-177.8	0.4
N15	C1	C2	N3	179.7	0.3
N15	C1	C2	O6	-0.2	0.6
C2	C1	C5	N4	0.9	0.4
C2	C1	C5	C14	-179.7	0.3
N15	C1	C5	N4	-177.0	0.3
N15	C1	C5	C14	2.4	0.5
C2	C1	N15	N16	0.8	0.5
C5	C1	N15	N16	178.1	0.3
C1	C2	N3	N4	-4.2	0.3
C1	C2	N3	C7	-152.8	0.3
O6	C2	N3	N4	175.7	0.3
O6	C2	N3	C7	27.0	0.5
C2	N3	N4	C5	5.0	0.4
C2	N3	N4	C13	171.2	0.4
C7	N3	N4	C5	155.2	0.3
C7	N3	N4	C13	-38.6	0.5
C2	N3	C7	C8	-82.3	0.4
C2	N3	C7	C12	96.6	0.4
N4	N3	C7	C8	132.0	0.3
N4	N3	C7	C12	-49.1	0.4
N3	N4	C5	C1	-3.5	0.4
N3	N4	C5	C14	177.0	0.3
C13	N4	C5	C1	-168.7	0.4
C13	N4	C5	C14	11.8	0.6
N3	N4	C13	H13	-123.4	2.7
N3	N4	C13	H13	96.7	3.8
N3	N4	C13	H13	9.3	2.7
C5	N4	C13	H13	40.1	2.7
C5	N4	C13	H13	-99.8	3.8
C5	N4	C13	H13	172.8	2.7
C1	C5	C14	H14	-123.7	1.7
C1	C5	C14	H14	137.2	2.1
C1	C5	C14	H14	8.5	2.0
N4	C5	C14	H14	55.6	1.7
N4	C5	C14	H14	-43.5	2.1
N4	C5	C14	H14	-172.1	1.9
N3	C7	C8	C9	-179.8	0.3
N3	C7	C8	H8	5.4	2.6
C12	C7	C8	C9	1.3	0.5
C12	C7	C8	H8	-173.5	2.5
N3	C7	C12	C11	179.8	0.3
N3	C7	C12	H12	3.4	3.0
C8	C7	C12	C11	-1.3	0.5
C8	C7	C12	H12	-177.7	3.0
C7	C8	C9	C10	0.1	0.5

C7	C8	C9	H9	-178.6	3.1
H8	C8	C9	C10	174.8	2.6
H8	C8	C9	H9	-3.9	4.0
C8	C9	C10	C11	-1.4	0.5
C8	C9	C10	H10	-179.1	3.0
H9	C9	C10	C11	177.3	3.1
H9	C9	C10	H10	-0.4	4.3
C9	C10	C11	C12	1.4	0.6
C9	C10	C11	H11	165.5	3.0
H10	C10	C11	C12	179.1	3.1
H10	C10	C11	H11	-16.9	4.3
C10	C11	C12	C7	-0.1	0.6
C10	C11	C12	H12	176.2	3.1
H11	C11	C12	C7	-164.4	3.0
H11	C11	C12	H12	11.9	4.3
C1	N15	N16	C17	-178.6	0.3
N15	N16	C17	C18	178.0	0.3
N15	N16	C17	N21	-2.4	0.5
N16	C17	C18	O19	5.1	0.4
N16	C17	C18	C20	-175.4	0.3
N21	C17	C18	O19	-174.6	0.3
N21	C17	C18	C20	4.8	0.4
N16	C17	N21	N22	0.4	0.5
C18	C17	N21	N22	-180.0	0.3
C17	C18	C20	H20	-53.4	2.3
C17	C18	C20	H20	-173.9	2.8
C17	C18	C20	H20	61.5	2.5
O19	C18	C20	H20	126.0	2.3
O19	C18	C20	H20	5.5	2.8
O19	C18	C20	H20	-119.1	2.5
C17	N21	N22	C23	-179.6	0.3
C17	N21	N22	H22	7.6	2.5
N21	N22	C23	C24	177.3	0.3
N21	N22	C23	C27	-6.3	0.5
H22	N22	C23	C24	-9.6	2.4
H22	N22	C23	C27	166.9	2.3
N22	C23	C24	N25	179.1	0.3
N22	C23	C24	O28	2.4	0.5
C27	C23	C24	N25	1.9	0.3
C27	C23	C24	O28	-174.8	0.3
N22	C23	C27	N26	-173.6	0.3
N22	C23	C27	C36	6.7	0.6
C24	C23	C27	N26	3.1	0.4
C24	C23	C27	C36	-176.6	0.3
C23	C24	N25	N26	-6.0	0.3
C23	C24	N25	C29	-156.4	0.3
O28	C24	N25	N26	170.8	0.3
O28	C24	N25	C29	20.4	0.5

C24	N25	N26	C27	8.0	0.3
C24	N25	N26	C35	152.4	0.3
C29	N25	N26	C27	160.0	0.3
C29	N25	N26	C35	-55.6	0.4
C24	N25	C29	C30	-63.5	0.4
C24	N25	C29	C34	114.6	0.4
N26	N25	C29	C30	149.0	0.3
N26	N25	C29	C34	-32.9	0.4
N25	N26	C27	C23	-6.8	0.3
N25	N26	C27	C36	172.9	0.3
C35	N26	C27	C23	-148.1	0.3
C35	N26	C27	C36	31.6	0.4
N25	N26	C35	H35	150.1	2.4
N25	N26	C35	H35	41.2	2.3
N25	N26	C35	H35	-83.0	2.9
C27	N26	C35	H35	-72.0	2.4
C27	N26	C35	H35	179.1	2.2
C27	N26	C35	H35	55.0	2.9
C23	C27	C36	H36	-29.7	2.5
C23	C27	C36	H36	-124.9	2.2
C23	C27	C36	H36	112.7	2.0
N26	C27	C36	H36	150.7	2.4
N26	C27	C36	H36	55.5	2.2
N26	C27	C36	H36	-66.9	2.0
N25	C29	C30	C31	176.5	0.3
N25	C29	C30	H30	-4.0	2.2
C34	C29	C30	C31	-1.6	0.5
C34	C29	C30	H30	177.9	2.2
N25	C29	C34	C33	-177.1	0.3
N25	C29	C34	H34	3.7	1.8
C30	C29	C34	C33	0.9	0.5
C30	C29	C34	H34	-178.2	1.8
C29	C30	C31	C32	1.2	0.5
C29	C30	C31	H31	177.6	2.8
H30	C30	C31	C32	-178.3	2.4
H30	C30	C31	H31	-1.8	3.7
C30	C31	C32	C33	-0.0	0.5
C30	C31	C32	H32	179.3	3.0
H31	C31	C32	C33	-176.3	3.0
H31	C31	C32	H32	3.0	4.2
C31	C32	C33	C34	-0.7	0.5
C31	C32	C33	H33	179.7	2.4
H32	C32	C33	C34	-180.0	2.9
H32	C32	C33	H33	0.4	3.8
C32	C33	C34	C29	0.2	0.5
C32	C33	C34	H34	179.4	1.8
H33	C33	C34	C29	179.8	2.5
H33	C33	C34	H34	-1.0	3.1

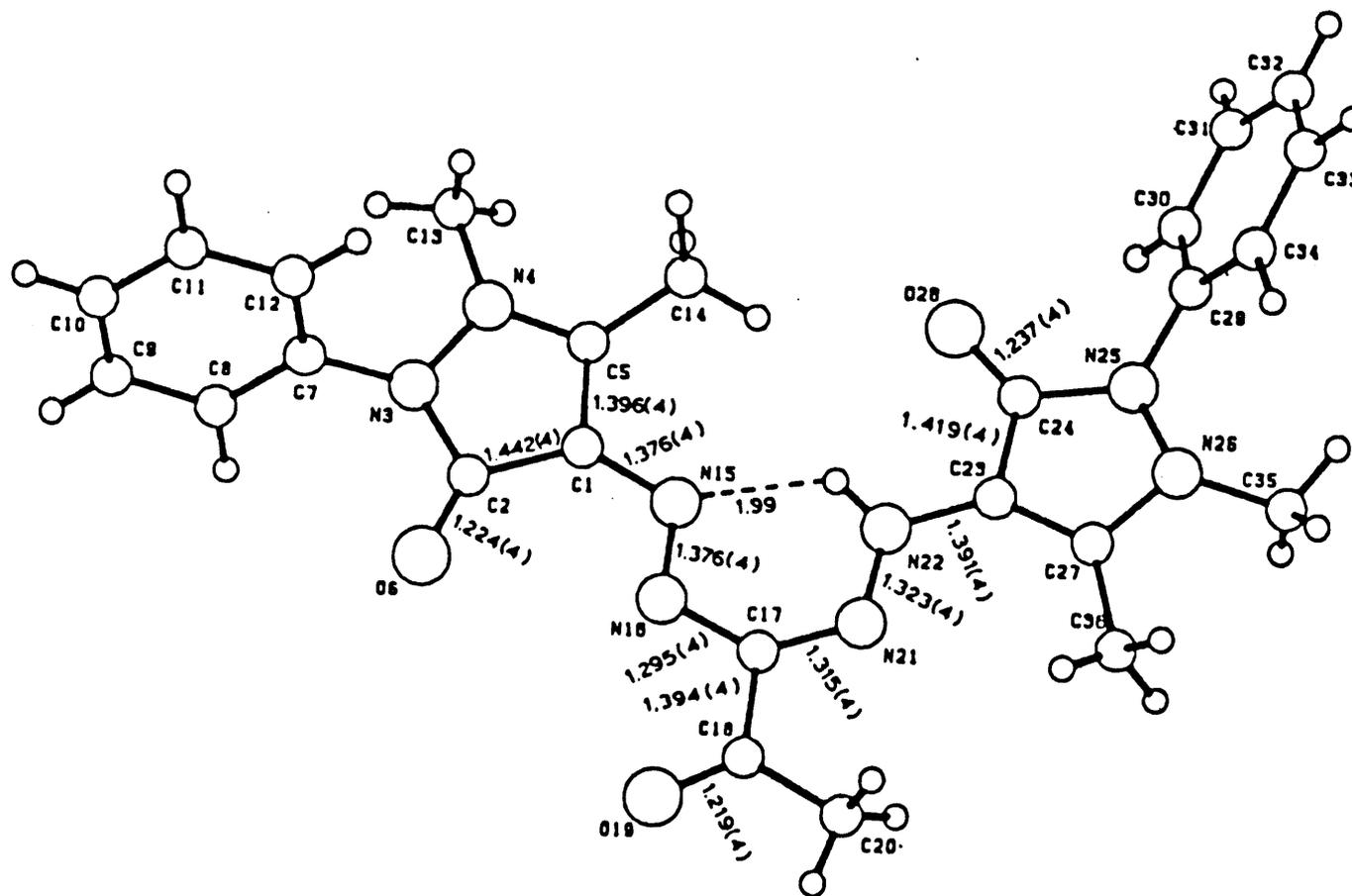


Fig. 40 Crystal structure of Azonol A-1: Numbers are bond length(A); ----- hydrogen bond.

Azonol A-2のX線による結晶解析は行なわなかったが、マスペクトルの測定及び元素分析の結果から Morganらにより報告されている Fig. 39 に示した構造をとるものと考えられる。

又、TAA-1及びTAA-2についても Azonol A-1及びAzonol A-2と同様な構造をとるものと考えられる。これらを Fig. 41 に示す。

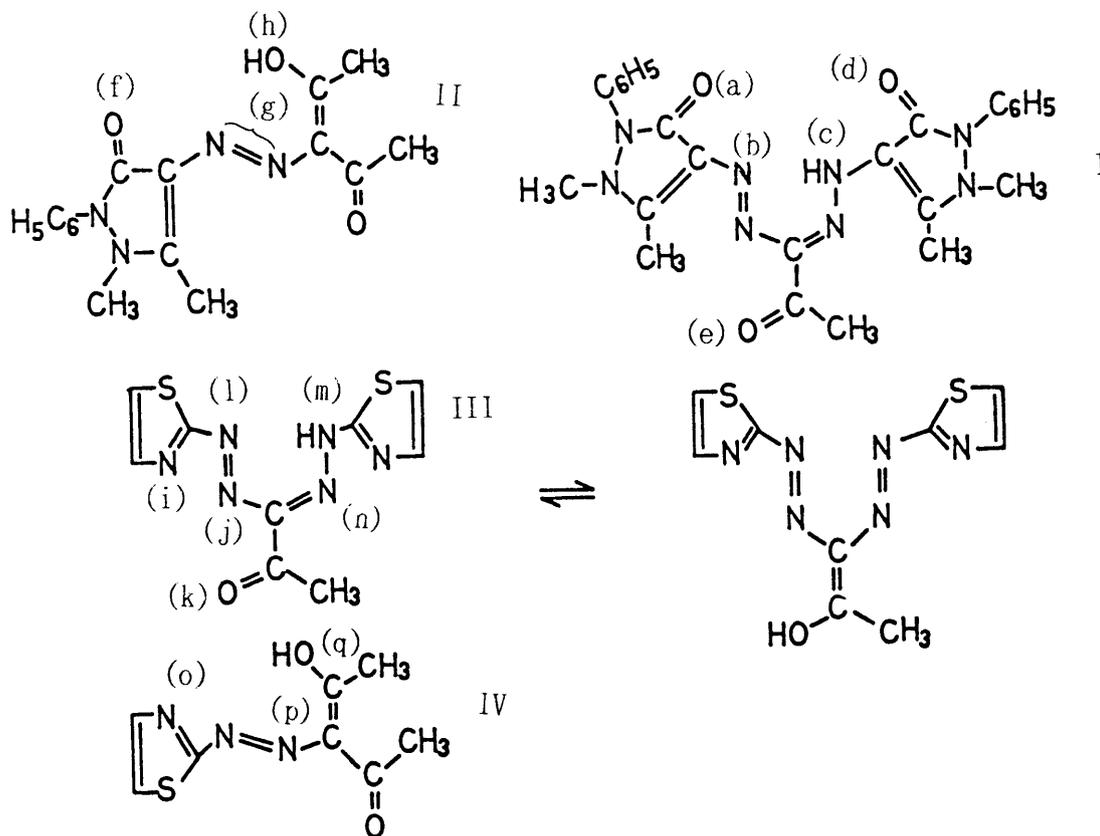


Fig.41 . Molecular structure: I, 3-(4-antipyrinylazo)-pentane-2,4-dione(Azonol A-2); II, 1-(4-antipyrinylazo)-1-(4-antipyrinylhydrazino)propane-2-one (Azonol A-1); III, 1-(2-thiazolylazo)-1-(2-thiazolylhydrazino)propane-2-one(TAA-1); IV, 3-(2-thiazolylazo)pentane-2,4-dione(TAA-2).

5.3 これら試薬の吸収曲線及び酸解離定数

Azonol A-1、Azonol A-2、TAA-1及びTAA-2の吸収曲線をそれぞれ Fig. 42、43、44、45、46 に示す。

得られた酸解離定数を Table 21 に示す。

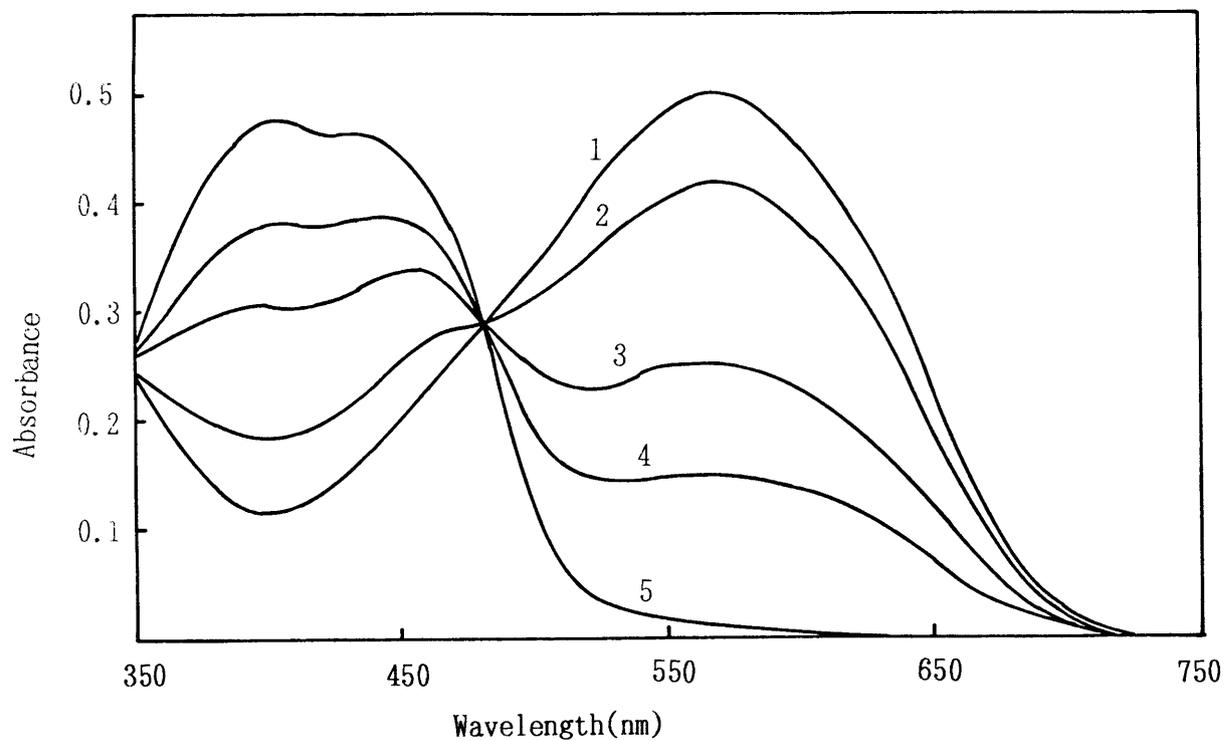


Fig.42 Absorption spectra of Azonol A-1
 $C_R = 2.8 \times 10^{-5} \text{ M}$, pH: (1) 1.27, (2) 1.60,
(3) 2.10, (4) 2.47, (5) 4.5 - 11.5.

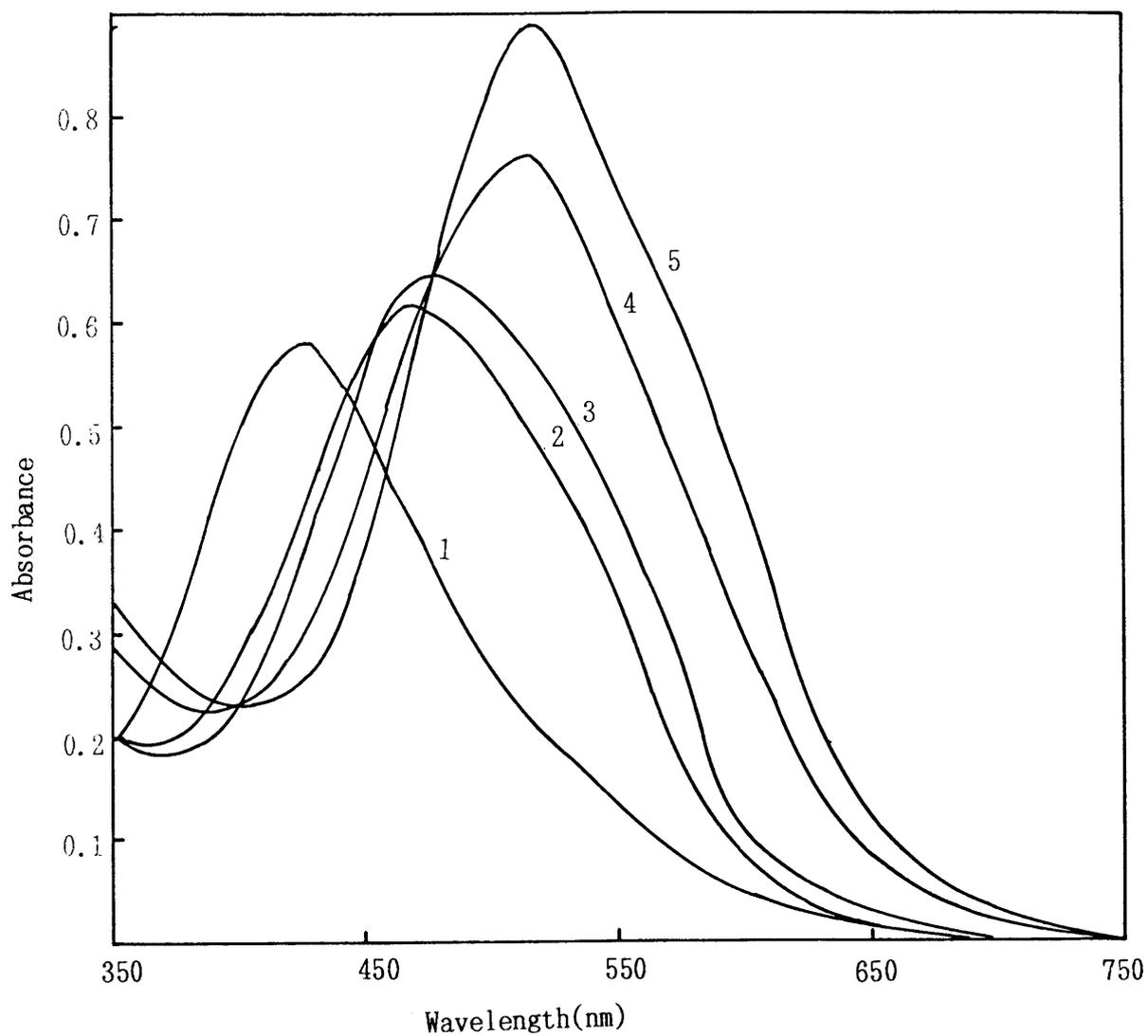


Fig. 43 Absorption spectra of TAA-1
 $C_R = 3.6 \times 10^{-5} M$, pH: (1) 1.55, (2) 2.68,
 (3) 4.88, (4) 6.20 (5) 9.0 - 11.5.

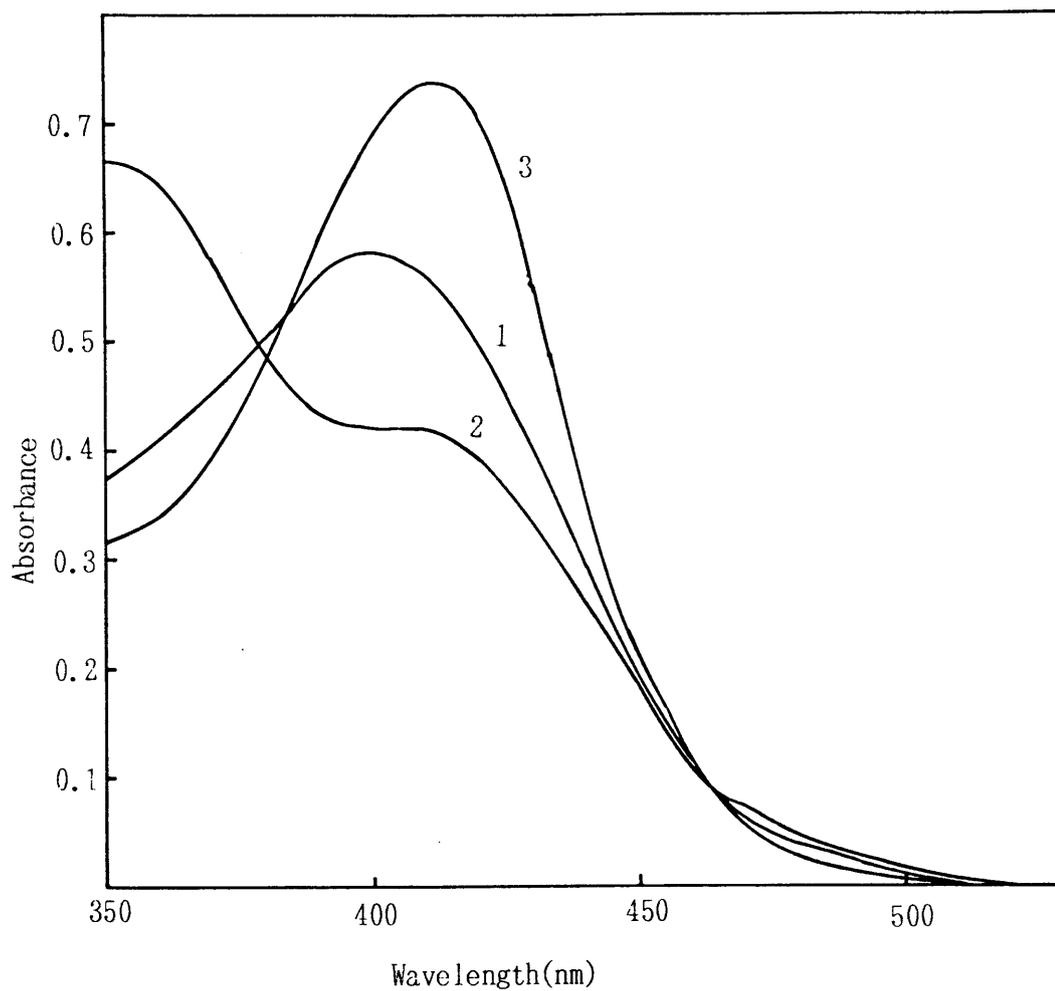


Fig. 44 Absorption spectra of Azonol A-2 and copper(II) chelates: $C_R = 4.2 \times 10^{-5} M$, pH: (1) 1.7 - 9.5, (2) 11.2, (3) Cu(II) chelate, $C_{Cu} = 1.7 \times 10^{-5} M$, pH 2 - 9.

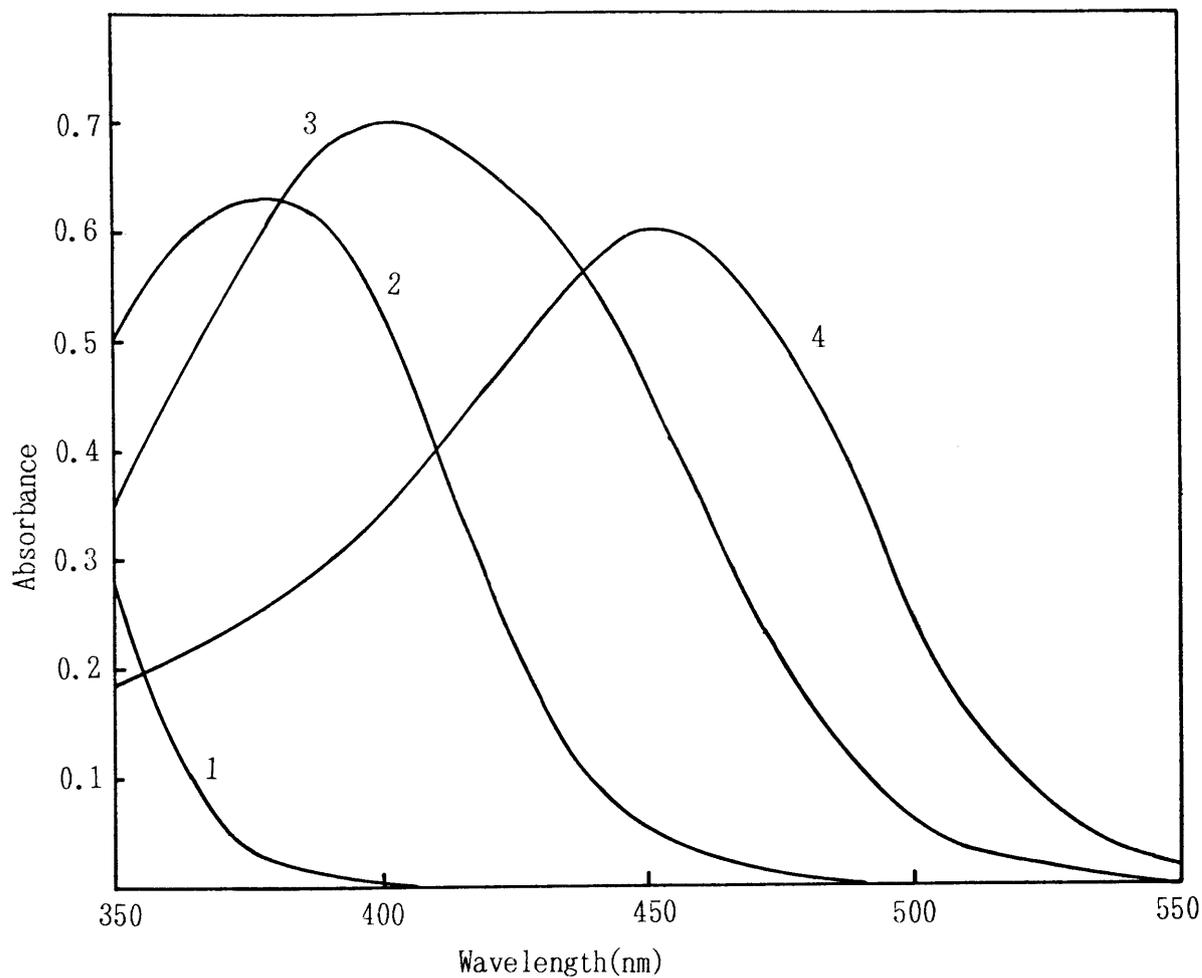


Fig. 45 Absorption spectra of TAA-2 and copper(II) chelates: $C_R = 4.5 \times 10^{-5} M$, pH: (1) 1.9, (2) 5.5, (3) 8.1, (4) Cu(II) chelate, $C_{Cu} = 4.9 \times 10^{-5} M$, pH 5.

Table 21 Acidity constants($\mu=0.1, 25^\circ\text{C}$)

Reagent	$\text{p}K_{a1}$	$\text{p}K_{a2}$	Medium
Azonol A-1	1.91	-	2.8% EtOH
Azonol A-2	10.25	-	1.0% EtOH
TAA-1	1.91	6.05	1.0% Dioxane
TAA-2	3.56	7.82	1.0% EtOH

Azonol A-1の場合はFig. 41の(I)に示されている(a)あるいは(d)の酸素についているプロトンが解離するものと考えられ、Azonol A-2の場合は(h)の酸素についているプロトン解離と考えられる。この酸解離定数の値はアゾ基の窒素と水素結合をしているためアセチルアセトンの酸解離定数の値より大きくなっている。

Budesinskyらは $\text{p}K_{a1}=2.30$ 、 $\text{p}K_{a2}=6.43$ と報告しているが、この値はAzonol A-1あるいはAzonol A-2のそれぞれの酸解離定数の値と異なっている。

TAA-1では $\text{pH}=1$ 付近でチアゾール環窒素及び(k)の酸素にプロトンが付加しているものと考えられ、はじめにチアゾール環窒素に付加しているプロトン解離、次いで(k)の酸素に付加しているプロトンの解離がおこるものと考えられる。

5.4 金属イオンとの反応

Azonol A-1及びTAA-1は種々の金属イオンと反応し、その錯体の色は、それぞれの遊離の試薬の色とは異なる。一方、Azonol A-2及びTAA-2は試薬及びそれらの錯体の色は共に黄色を呈し、錯体生成による極大吸収波長のシフトはわずかである。Azonol A-1、Azonol A-2、TAA-1、TAA-2の錯体の吸収スペクトルをそれぞれFig. 44、45、46、47に示した。

Azonol A-1及びTAA-1はAzonol A-2及びTAA-2と比較してかなり低い pH から金属イオンと反応する。何種かのAzonol A-1錯体は pH が高く

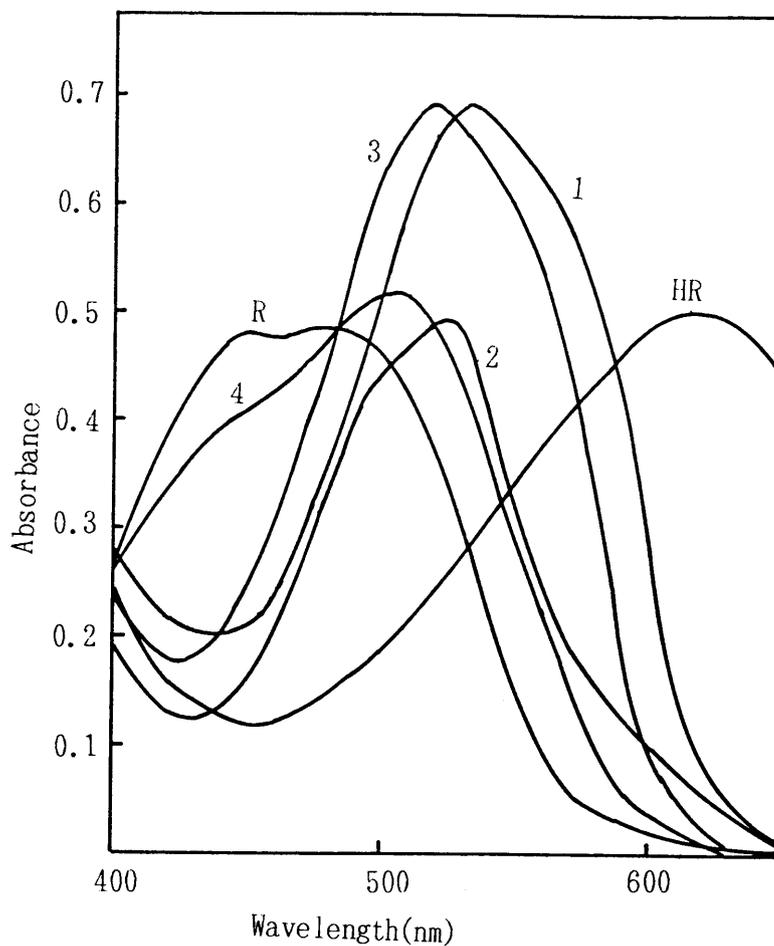


Fig.46 Absorption spectra of some chelates with Azonol A-1 in 2.8% ethanol: $C_R = 2.8 \times 10^{-5}M$, $C_M = 2.2 \times 10^{-5}M$;
 (1) Cu(II), pH 1,7; (2) Cu(II), pH 5.2; (3) Ni(II), pH 1.9 - 4.8; (4) Zn(II), pH 4.8; HR, pH 1.27; R, pH 5.34.

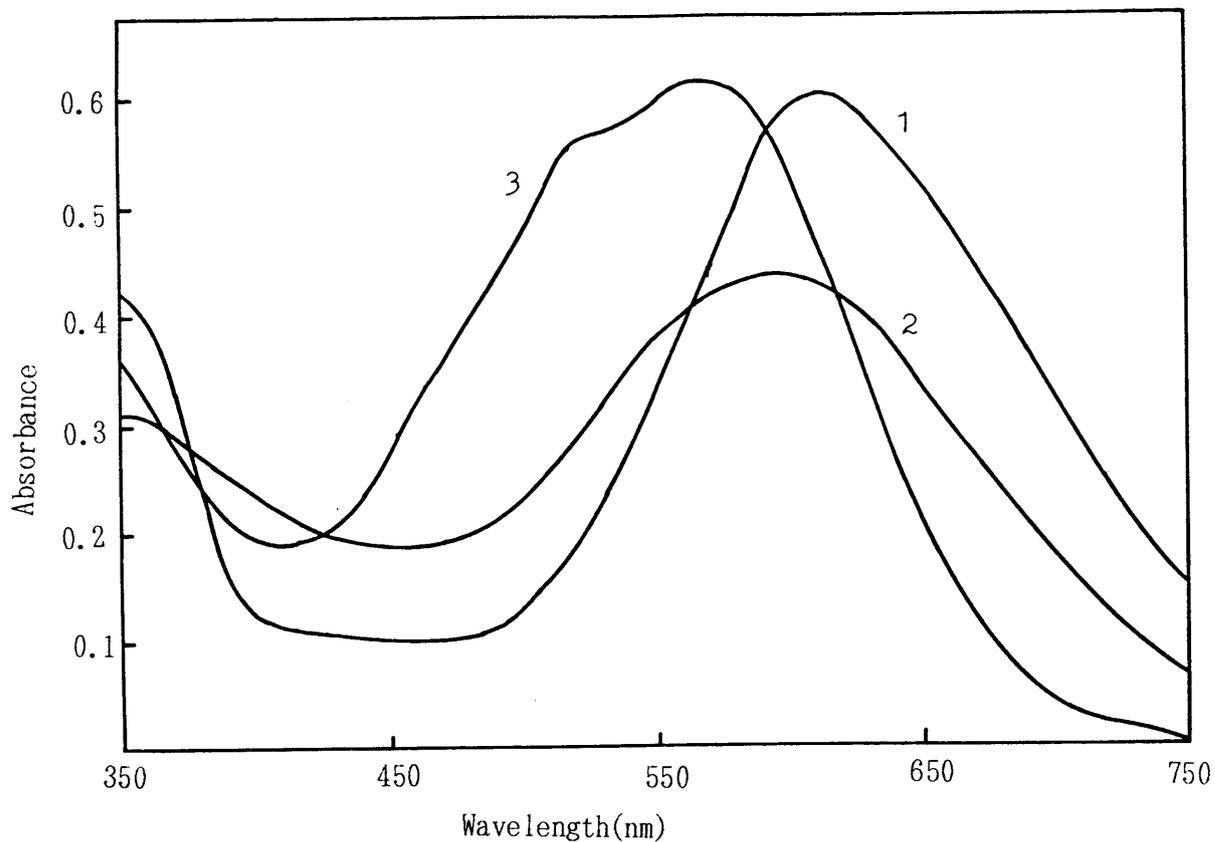
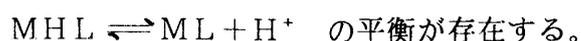


Fig.47. Absorption spectra of some chelates with TAA-1
in 1% dioxane: $C_R = 3.4 \times 10^{-5} M$;
(1) $Cu(II) = 3.3 \times 10^{-5} M$, pH 3.8; (2) $Ni(II)$
 $= 1.2 \times 10^{-5} M$, pH 4.0; (3) $Zn(II) = 1.9 \times$
 $10^{-5} M$, pH 6.3.

なるにつれてその吸収スペクトルも変化した。これはプロトン付加錯体からプロトンが解離するものと考えられる。すなわち、



銅(II)錯体のプロトン解離定数 $K_a = 1.0 \times 10^{-3}$ を得た。これは Azonol A-1 の (e) の酸素についているプロトンの解離によるものと考えられる。

Azonol A-1 及び TAA-1 は主として 1:1 錯体を形成する。

又、Table 22 にそれぞれの錯体の極大吸収波長、モル吸光係数及びこれらの試薬が種々の金属イオンと反応する pH 範囲について示す。

Table 22 Reactions with metal ions

Metal ion	λ_{\max} (nm)	$\epsilon \times 10^{-4}$ ($1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)	pH (min)	Composition (M : R)	Metal ion	λ_{\max} (nm)	$\epsilon \times 10^{-4}$ ($1 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)	pH (min)	Composition (M : R)
Azono1A-1					TAA-1				
Cu(II)	535 526	2.5(1.3) 1.8(4.3)	1M HCl	1 : 1	Cu(II)	612	1.0(1.8)	0.1M HCl	1 : 1
Ni(II)	520	2.3(1.4) 2.7(4.8)	0.2M HCl	1 : 1	Ni(II)	596	1.4(3.8)	2.0	1 : 1
Zn(II)	516	1.3(1.6) 1.5(4.8)	0.5M HCl	1 : 1	Zn(II)	570	1.7(6.2)	5.0	1 : 1
Co(II)	525 515	1.5(1.0) 1.3(2.5)	1.0	1 : 1	Co(III)	706		2.0	
Pd(II)	520 526	1.1(1.3) 1.4(4.5)	0.5M HCl	1 : 1	Cd(II)	570	1.7(6.3)	6.5	1 : 1
Bi(III)	536	1.0(1.8)	1.0	1 : 2	Cobalt chelate precipitated. Fe(III), Mn(II) and Pd(II) decomposed TAA-1.				
Sc(III)	526	2.6(1.5)	1.0	1 : 1	Bi(III), Th(IV), Zr(IV), $\text{UO}_2(\text{II})$ and La(III) did not react with TAA-1.				
Th(IV)	552 515	2.2(1.0) 2.2(4.0)	1.0 1.0	1 : 2 1 : 2					
Cd(II), Mn(II), La(III), Zr(IV)-Azono1 A-1 chelates are unstable.					TAA-2				
					Cu(II)	453	1.8	3.0	1 : 1
					Ni(II)	445	3.6	5.0	1 : 2
					Co(II)	405		7.0	
					Zn(II)	400		7.0	
Azono1 A-2									
Cu(II)	413	2.4	2.4	1 : 1					

* pH at which ϵ was measured.

溶液中でAzonol A-1が金属イオンに配位するときFig. 41のIに示してある2つのアンチピリン環はN(15)-C(1)及びN(22)-C(23)結合が180°回転するものと考えられる。これは1-(2-チアゾリルアゾ)-2-ナフトール(TAN)⁴⁾の場合と同様である。

Azonol A-1はジコン⁵⁾の場合と同様に四座配位子であると考えられ、(a)のO、(b)のN、(c)のN、(d)のOで配位しているものと考えられる。

一方、TAA-1は四座配位子として配位するためには四員環を形成しなければならず無理がある。2-(2-チアゾリルアゾ)フェノール類と同様にN(i)、N(j)及びO(k)が配位する三座配位子と考えられる。又、TAA-1は分子が大きいため、立体障害をおこし1:2錯体を生成し難いと考えられる。

Azonol A-2及びTAA-2はそれぞれO(f)、N(g)、O(h)及びN(o)、N(p)、O(q)を配位原子として錯形成を行なう。TAA-2はTAN同様ニッケルと1:2(MR₂)錯体を生成する。

5.5 分析化学への応用

Azonol A-1はピリジルアゾフェノールやチアゾリルアゾフェノールに比べるとより強い酸性溶液中で種々の金属イオンと反応するが、錯体の組成が1:1であるため、感度はそれ程高くない。又、試薬ブランクは強酸性及び中性においても共に大きい。

強酸性下での銅(II)の定量について検討した。銅(II)-Azonol A-1錯体の吸光度と酸強度の関係をFig. 48に示す。銅(II)-Azonol A-1錯体をpH0.3~1.2のpH範囲で形成させた。反応は迅速である。過剰のAzonol A-1をイソアミルアルコールで1回抽出除去した後水相に残った銅錯体の吸光度を536nmで試薬ブランクを対照として測定した。1.7×10⁻⁴M Azonol A-1で吸光度は最大一定となった。銅(II)2-15μg/10mlの間で検量線は直線を示した。

又、Azonol A-1はビスマスのEDTA滴定指示薬としてpH1.0-2.0で紫色から青色への鋭敏な変色を示す。光度滴定の結果をFig. 49に示す。

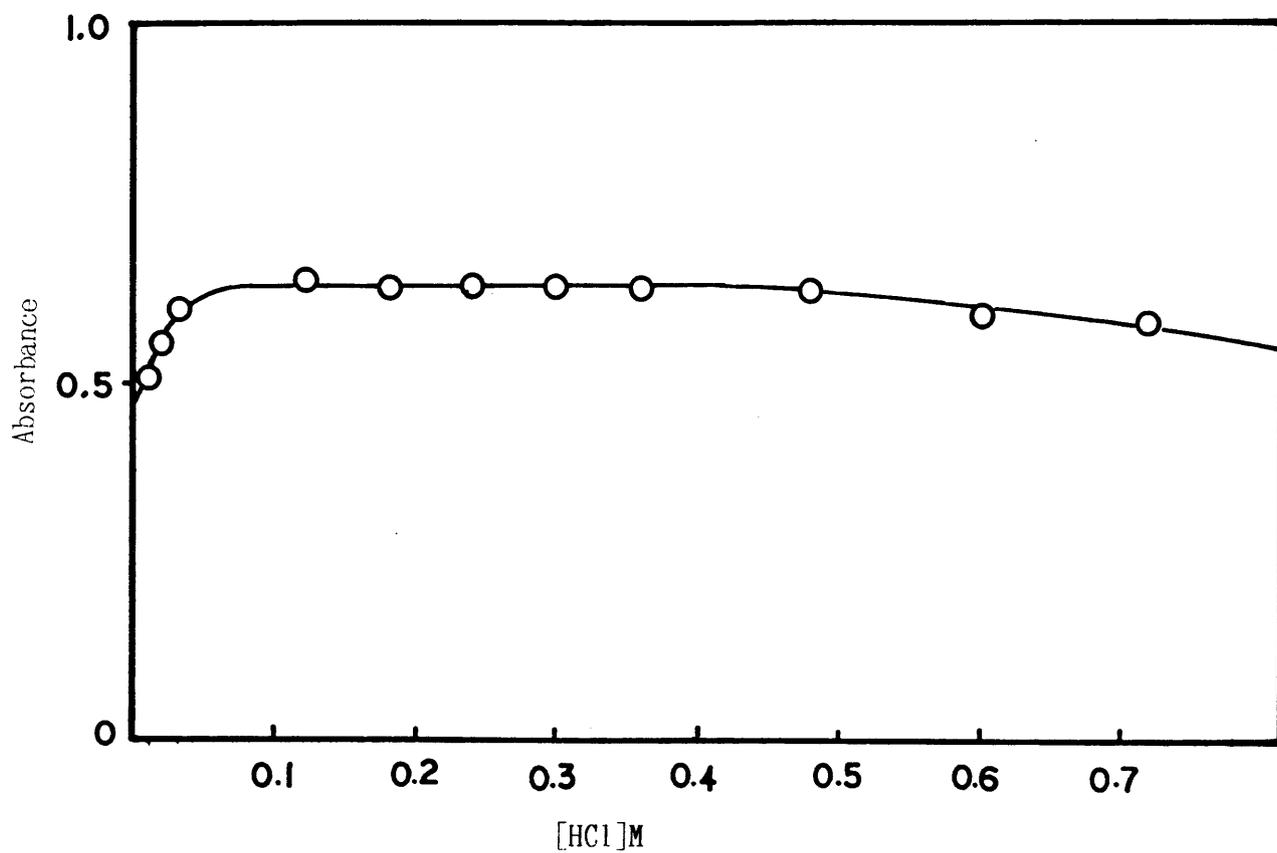


Fig.48 pH dependence of the Cu/Azonal A-1 chelate formation against reagent blank;Condition: 1.73×10^{-4} M Azonal A-1, $13.1 \mu\text{g}$ Cu in 10ml;Absorbance measured at 536 nm

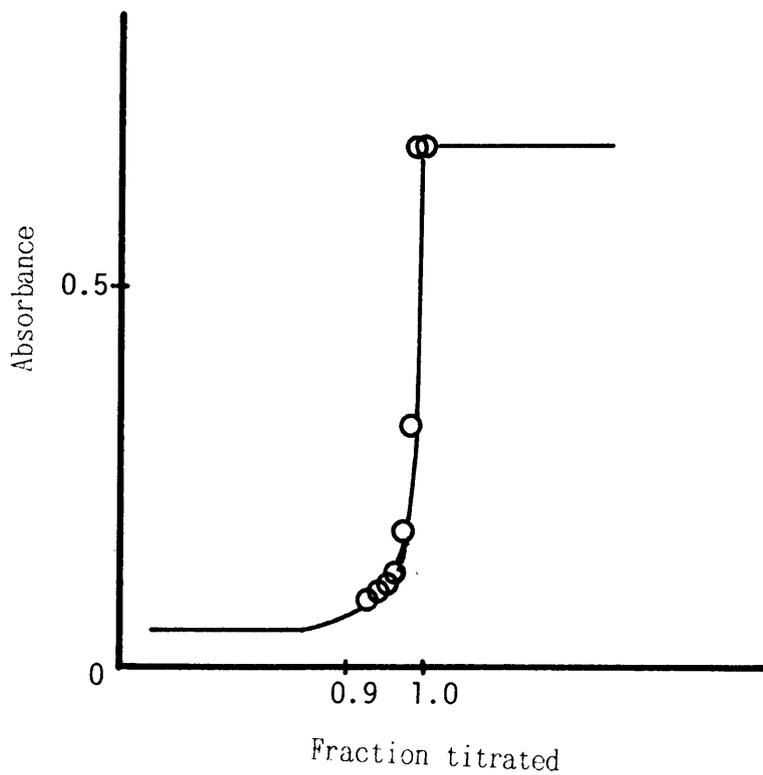


Fig.49 Photometric titration curve of $2.14 \times 10^{-3} \text{M}$ bismuth
with $3 \times 10^{-5} \text{M}$ AzonolA-1 as indicator at pH 1;
absorbance measured at 640nm

第5章 文献

- 1) B. Budesinsky, J. Svecova, *Anal. Chim. Acta*, 49(1970)231
- 2) G. T. Morgan, J. Reilly, *J. Chem. Soc.*, 103(1913)808, 1494
- 3) T. Ishizuki, H. Wada, G. Nakagawa, *Anal. Chim. Acta*, 212(1988)253
- 4) M. Kurahashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 49(1976)2927
- 5) K. L. Cheng, K. Ueno, T. Imamura, *Hand book of Organic Analytical Reagents*,
CRC Press, Florida, 1982

第6章 キシレノールオレンジ錯体に関する 研究

キシレノールオレンジ(XO)は多くの金属イオンと広いpH領域で錯体を生成し、種々の金属イオンのキレート滴定に指示薬として広く用いられている。しかし銅(II)-XO錯体はEDTAによる置換反応速度が小さくXOを指示薬として銅を滴定することは不可能である。Pribilら¹⁾は少量の1,10-フェナントロリンを加えると終点で速やかに変色することを見いだした。銅(II)-XO錯体のEDTAとの置換反応の機構を明らかにする目的で銅錯体形成の平衡及び銅錯体のEDTAによる置換反応速度について検討した。

6.1 キシレノールオレンジ(XO)のプロトン付加及びCu(II)-XOの 平衡論

XOの金属イオンとの錯生成反応は一般に複雑であり、銅(II)、亜鉛(II)、ニッケル(II)などの錯体の組成及び錯生成平衡についての報告があるが²⁾⁻⁴⁾、必ずしも報告値は一致していない。

6.1.1 試薬及び装置

試薬

XOは文献の方法^{1) 5)}に従って合成した。この文献の方法は粗XOを反応溶媒にエタノールを加えるこよにより沈殿として得ているが、この方法ではXOの分解がおこり収量が悪くなった。従って、著者は反応溶媒を減圧下で除去することにより粗XOを得た。得られた粗XOをセルロースカラム(TOYO-Roshiセルロース粉末)で10%酢酸溶液と振り混ぜさせたn-ブタノール溶離液を用いて分離精製を行なった。反応混合物は

クレゾールレッド、セミ・キシレノールオレンジ、キシレノールオレンジ、イミノ二酢酸の順に溶離された。XOの溶離部分を回収し、減圧下で溶媒を除去した。この操作を数回繰り返した。ここで得られた純粋なXOはNa型であるので、陽イオン交換樹脂カラム{Dowex 50W-X8 (H⁺) 陽イオン交換樹脂(100-200メッシュ)}を通すことにより遊離酸を得た。XOの純度はペーパークロマトグラフで上記と同様の展開液を用いて調べ、1つのスポットしか現われないことを確認した後水酸化ナトリウム標準溶液によるpH滴定、銅(II)標準溶液による光度滴定などの方法により調べた。使用したXOの純度は98%以上である。

炭酸ガスを含まない0.2M-水酸化ナトリウム溶液は常法に従って調製し、フタル酸水素カリウム溶液で標定して力価を定めた。(f=0.9982)

その他の試薬はすでに述べたとうりである。

装置

吸光度の測定には Union Giken High Sens Spectrophotometer SM401型または日立124型 Spectrophotometerを用い、pHの測定には日立-堀場F5型pH meter又はRadiometer pH meter type pHM26cを用いた。銅(II)イオン選択性電極は電気化学計器社製(7140型)を用いた。

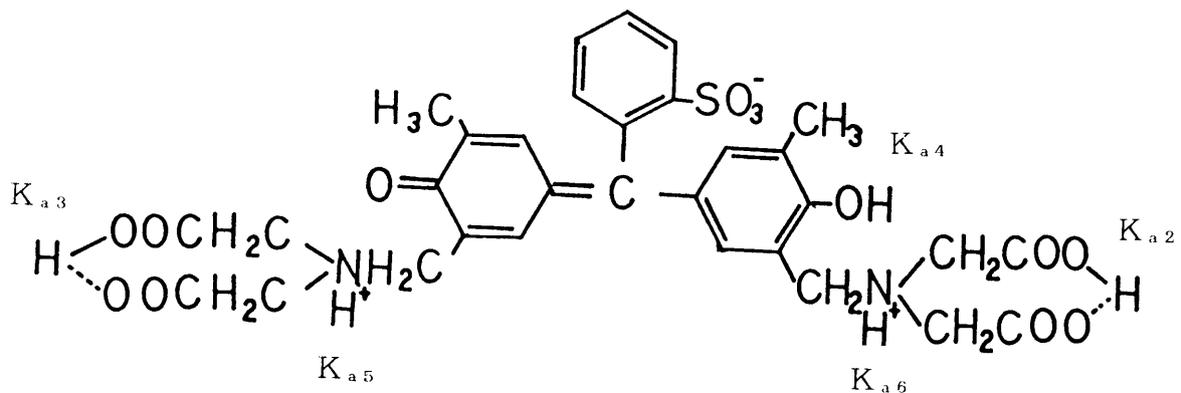
実験はすべて25±1°C, イオン強度0.1 (KNO₃)で行なった。pH6.70~7.10のpH調節には緩衝液として0.02M-MOPS {3-(N-Morpholino) propane sulfonic acid}-NaOH溶液を用い、それ以下のpHでは0.02M-MES {2-(N-Morpholino) ethane sulfonic acid}-NaOH溶液を用いた。

ここで求めた定数はすべて濃度定数である。

6.1.2 実験及び結果

XOの酸解離定数

XO (H₆L)の酸解離定数は既に多くの報告があるが^{1)~6)}、著者はpH滴定法及び吸光光度法によりpK_{a2}=2.44, pK_{a3}=2.88, pK_{a4}=6.74を得た。この値は吉野らが報告した値pK_{a2}=2.36, pK_{a3}=2.85, pK_{a4}=6.74⁵⁾とよく一致している。但しK_{a2}, K_{a3}, K_{a4}は次のプロトン解離定数である。



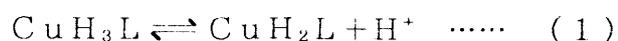
$pK_{a5} = 10.56$, $pK_{a6} = 12.23$ は吉野らの値をそのまま使用した。

銅(II) - XO 錯体の生成定数

銅(II) は XO と反応して実験条件によって種々の錯体を生成する。銅(II) - XO 錯体の生成定数及び錯体のプロトン付加反応の平衡定数を pH 滴定法、吸光光度法及び銅(II) イオン選択性電極を用いる電位差滴定法で決定した。

銅(II) に対して XO が過剰に存在する場合

XO ($2.54 \times 10^{-3} M$) 溶液 (曲線 1) 及び銅(II) ($5.15 \times 10^{-4} M$) と XO ($2.54 \times 10^{-3} M$) を含む溶液 (曲線 2) を 0.2 M 水酸化ナトリウム標準溶液で滴定した場合の滴定曲線を Fig. 50 に示す。Fig. 50 の曲線 1 と 2 の pH 4.5 までに加えられたアルカリの濃度を比較すると、その差は最初に加えた銅(II) の濃度に相当する。pH 4.5 付近では XO は主として H_3L として存在しているので、pH 4.5 付近で CuH_2L が生成していることがわかる。さらに、pH 4.5 以上では CuH_2L のプロトン解離、pH 4.5 以下ではプロトン付加が考えられる。すなわち



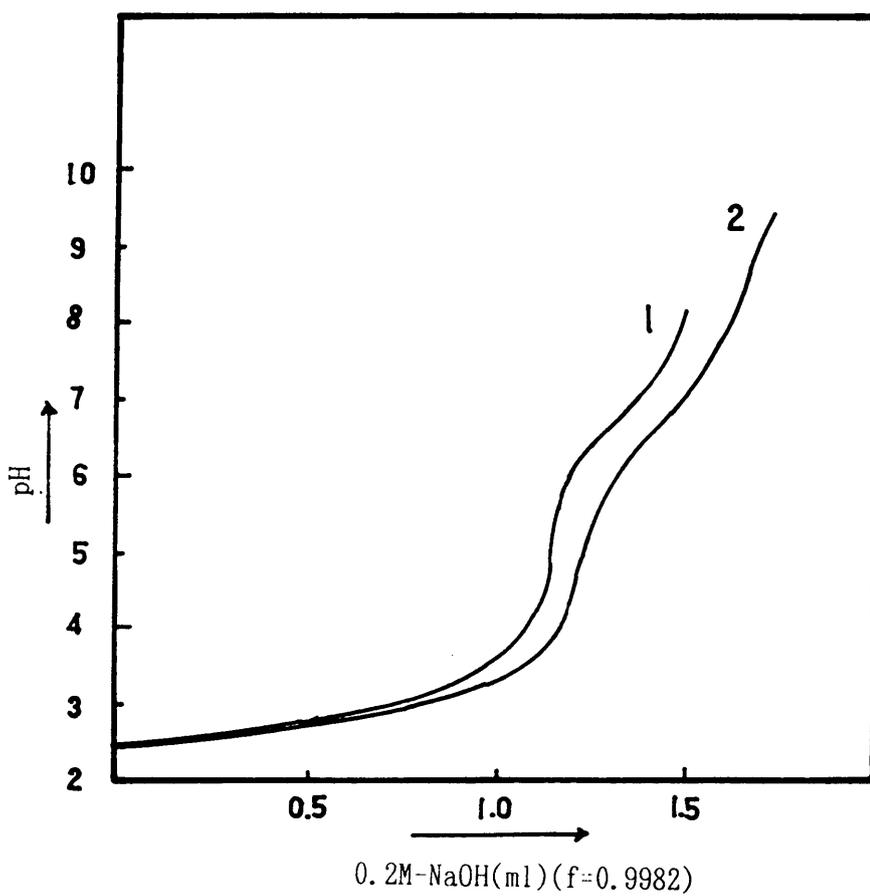
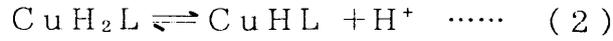


Fig.50 Potentiometric titration curve

1. $C_{xO}=2.54 \times 10^{-3}M$; 2. $C_{xO}=2.54 \times 10^{-3}M, C_{Cu}=5.15 \times 10^{-4}M$



それぞれの錯体のプロトン付加の平衡定数を

$$K_{\text{CuH}_2\text{L}}^{\text{H}} = \frac{[\text{CuH}_3\text{L}]}{[\text{CuH}_2\text{L}][\text{H}]}, \quad K_{\text{CuHL}}^{\text{H}} = \frac{[\text{CuH}_2\text{L}]}{[\text{CuHL}][\text{H}]}$$

$$K_{\text{CuHL}}^{\text{H}} = \frac{[\text{CuHL}]}{[\text{CuL}][\text{H}]}$$

とすれば、滴定曲線 2 から錯体に結合している解離し得る水素イオンの平均数 \bar{n} を求め、生成曲線よりそれぞれの平衡定数が決定できる。

$$\bar{n}_{\text{H}} = \frac{\sum_{n=1}^3 n [\text{CuH}_n\text{L}]}{C_{\text{CuH}_2\text{L}}} \quad \cdots \cdots (4)$$

XO の全濃度を C_{L} 、銅 (II) の全濃度を C_{Cu} 、加えたアルカリの濃度を $[\text{Na}]$ とすると、次の関係式が成り立つ。

$$C_{\text{L}} = \sum_{j=0}^6 [\text{H}_j\text{L}] + \sum_{n=0}^3 [\text{CuH}_n\text{L}] \quad \cdots \cdots (5)$$

$$C_{\text{Cu}} = [\text{M}] + \sum_{n=0}^3 [\text{CuH}_n\text{L}] \quad \cdots \cdots (6)$$

$$6C_{\text{L}} - [\text{Na}] = ([\text{H}] - [\text{OH}]) + \sum_{j=1}^6 j [\text{H}_j\text{L}] + \sum_{n=1}^3 n [\text{CuH}_n\text{L}] \quad \cdots \cdots (7)$$

又、この実験条件では $[\text{H}_6\text{L}]$ 、 $[\text{L}]$ 、 $[\text{M}]$ は無視出来る。式 (4) (5) (6) (7) から

$$\bar{n}_H = \frac{6C_L - [Na] - j(C_L - C_{Cu}) - ([H] - [OH])}{C_{Cu}}$$

\bar{n}_H を $-\log [H^+]$ に対してプロットするとFig. 51の生成曲線が得られ、pH2以下ですでに CuH_3L が生成しており、pHが高くなるに従って3個のプロトンが逐次解離することがわかる。

$\bar{n}_H = 2.5, 1.5, 0.5$ の $-\log [H^+]$ の値より $\log K_{CuH_3L}^H = 3.00$

$\log K_{CuH_2L}^H = 5.55, \log K_{CuHL}^H = 8.25$ が得られた。

銅(II)に対して約5倍量のXOが存在する場合のpH6.5における吸収曲線をFig. 52(曲線1)に示す。pH6.5ではXOは H_3L 及び H_2L として存在しており、 H_2L は570nm付近にかなりの吸収を示すので、曲線1から過剰のXOのみを含む溶液の吸収曲線(曲線2)を差し引いて銅(II)-XO錯体の吸収曲線(曲線3)を示した。極大吸収波長570nmで、モル吸光係数は $3.0 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ である。

pH滴定の結果からpH6.5付近では $CuHL$ が主として存在していることは明らかであるから、570nmに極大吸収波長を示す赤紫色錯体は $CuHL$ である。pH<6.5では極大吸収波長は短波長側に移動し、溶液の色は赤紫色から橙黄色になり、 $CuHL$ にプロトン付加反応が進行する。 CuH_3L 、 CuH_2L は黄色を呈し、XOの H_5L および H_4L と類似の吸収曲線を示した。

XO($6.10 \times 10^{-5} \text{ M}$)と銅(II)($1.24 \times 10^{-5} \text{ M}$)を含む溶液のpHを4~7の範囲で変化させて574nmで測定した吸光度から、別にpH4~7で同じ波長で測定したXO($4.86 \times 10^{-5} \text{ M}$)溶液の吸光度を差し引いて銅(II)-XO錯体の各pHにおける吸光度を求めた。(Fig. 53)

$\log - \text{plot}$ 法により傾き1の直線が得られ、 $\log K_{CuH_2L}^H = 5.70$ が得られた。この値はpH滴定法で得られた値とかなりよく一致している。

pH滴定法及び吸光度法により銅(II)-XO錯体のプロトン付加の平衡定数を求めることができたが、銅(II)-XO錯体はかなり低いpHで生成するため、その生成定数を求めることは出来なかった。

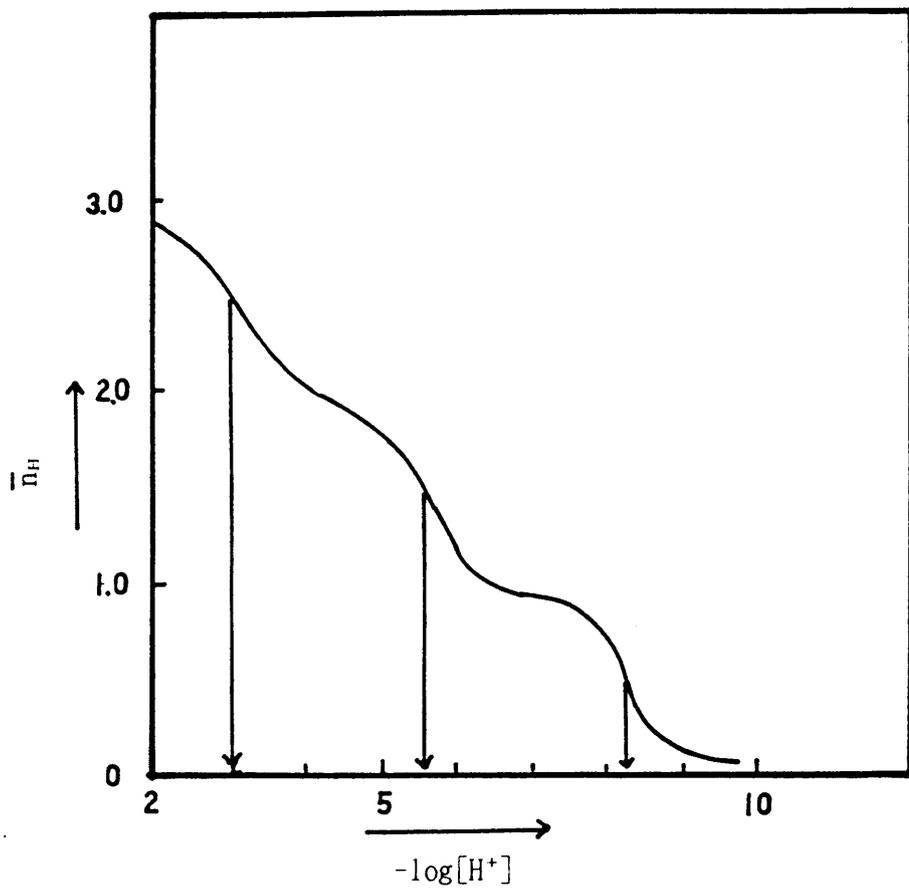


Fig. 51 \bar{n}_H vs $-\log[H^+]$

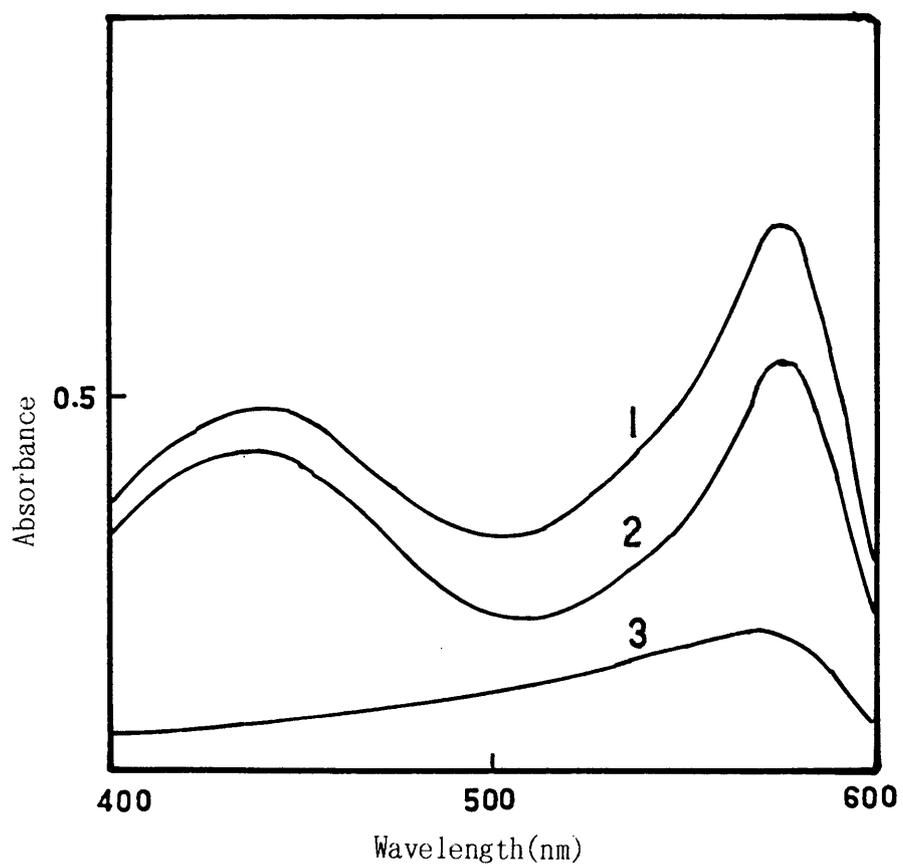


Fig.52 Absorption spectra of CuHL

1. $C_{XO}=6.10 \times 10^{-5}M, C_{Cu}=1.24 \times 10^{-5}M$ 2. $C_{XO}=4.86 \times 10^{-5}M$

3. 1-2 ; pH6.5

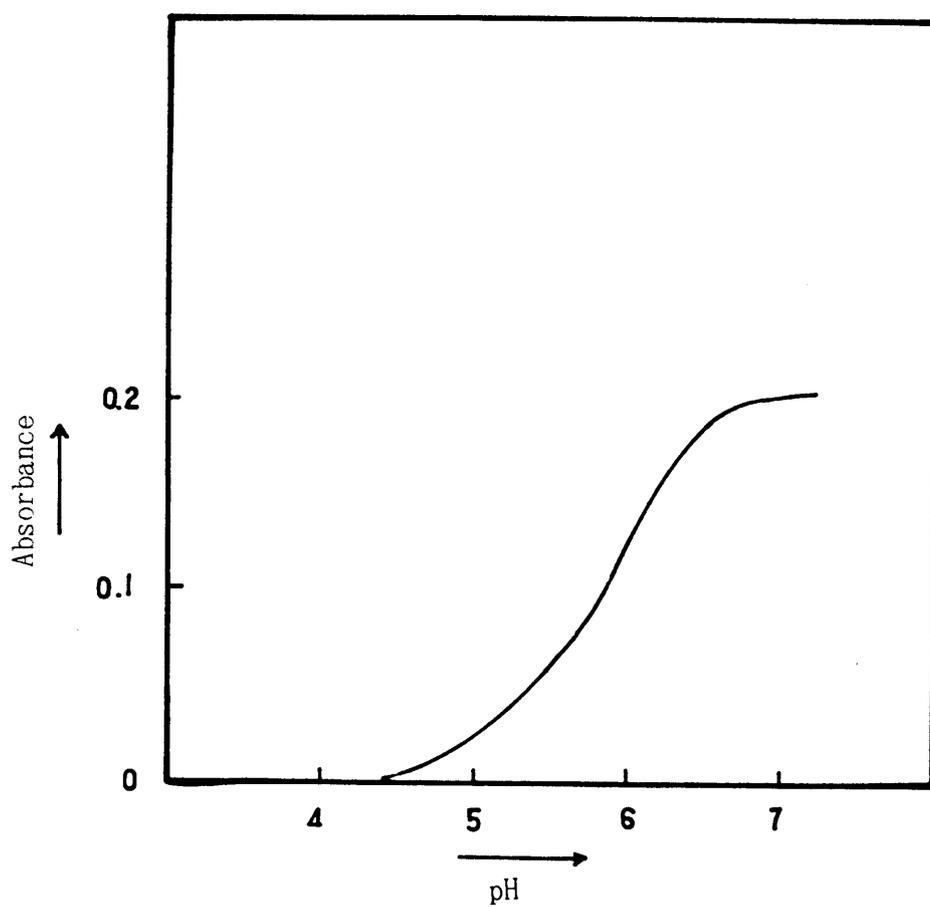


Fig.53 Absorbances of CuHL at 574nm

$$C_{Xo}=6.10 \times 10^{-5} M, C_{Cu}=1.24 \times 10^{-5} M$$

銅(II)イオン選択性電極を用い、遊離の銅(II)イオン濃度を測定することにより銅(II) : XO = 1 : 1 錯体の生成定数を求めた。銅(II)イオン選択性電極による電位差法の測定は中川らの方法⁷⁾に従った。銅(II) ($3.09 \times 10^{-4} \text{M}$)、XO ($1.525 \times 10^{-3} \text{M}$) を含む溶液のpHを2.5から6.5まで変化させて電位を測定して得られた電位-pH曲線をFig. 54 (曲線2)に示す。又、同様にしてXO ($1.525 \times 10^{-3} \text{M}$) 溶液の電位を測定した(曲線1)ところ応答限界は十分低いので、この方法で生成定数を決定することができる。

実験条件ではCuH₃L及びCuH₂Lが生成しているので生成定数は式(9)、(10)で与えられる。

$$K_{\text{CuH}_3\text{L}}^{\text{H}_3\text{L}} = \frac{[\text{CuH}_3\text{L}]}{[\text{Cu}][\text{H}_3\text{L}]} \quad \dots\dots (9)$$

$$K_{\text{CuH}_2\text{L}}^{\text{H}_2\text{L}} = \frac{[\text{CuH}_2\text{L}]}{[\text{Cu}][\text{H}_2\text{L}]} \quad \dots\dots (10)$$

式(9)、(10)の両辺の対数をとると、式(11)、(12)が得られる。

$$\log K_{\text{CuH}_3\text{L}}^{\text{H}_3\text{L}} = p\text{Cu} + \log \frac{[\text{CuH}_3\text{L}]}{[(\text{H}_3\text{L})']} + \log \alpha_{\text{H}_3\text{L}(\text{H})} \quad \dots\dots (11)$$

$$\log K_{\text{CuH}_2\text{L}}^{\text{H}_2\text{L}} = p\text{Cu} + \log \frac{[\text{CuH}_2\text{L}]}{[(\text{H}_2\text{L})']} + \log \alpha_{\text{H}_2\text{L}(\text{H})} \quad \dots\dots (12)$$

ここで $\alpha_{\text{H}_3\text{L}(\text{H})}$ 、 $\alpha_{\text{H}_2\text{L}(\text{H})}$ はそれぞれH₃L及びH₂Lのプロトン付加の副反応係数である。又、 $C_L \gg C_{\text{Cu}}$ であるから $([\text{CuH}_3\text{L}] + [\text{CuH}_2\text{L}]) \approx C_{\text{Cu}}$ である。測定した電位からpCuを計算して $\log \alpha_{\text{H}_3\text{L}(\text{H})}$ 又は $\log \alpha_{\text{H}_2\text{L}(\text{H})}$ に対してプロットすると、それぞれ傾き1の直線が得られ(Fig. 55)その切片から

$$K_{\text{CuH}_3\text{L}}^{\text{H}_3\text{L}} = 10^{6.55}, K_{\text{CuH}_2\text{L}}^{\text{H}_2\text{L}} = 10^{9.92} \text{ が得られた。}$$

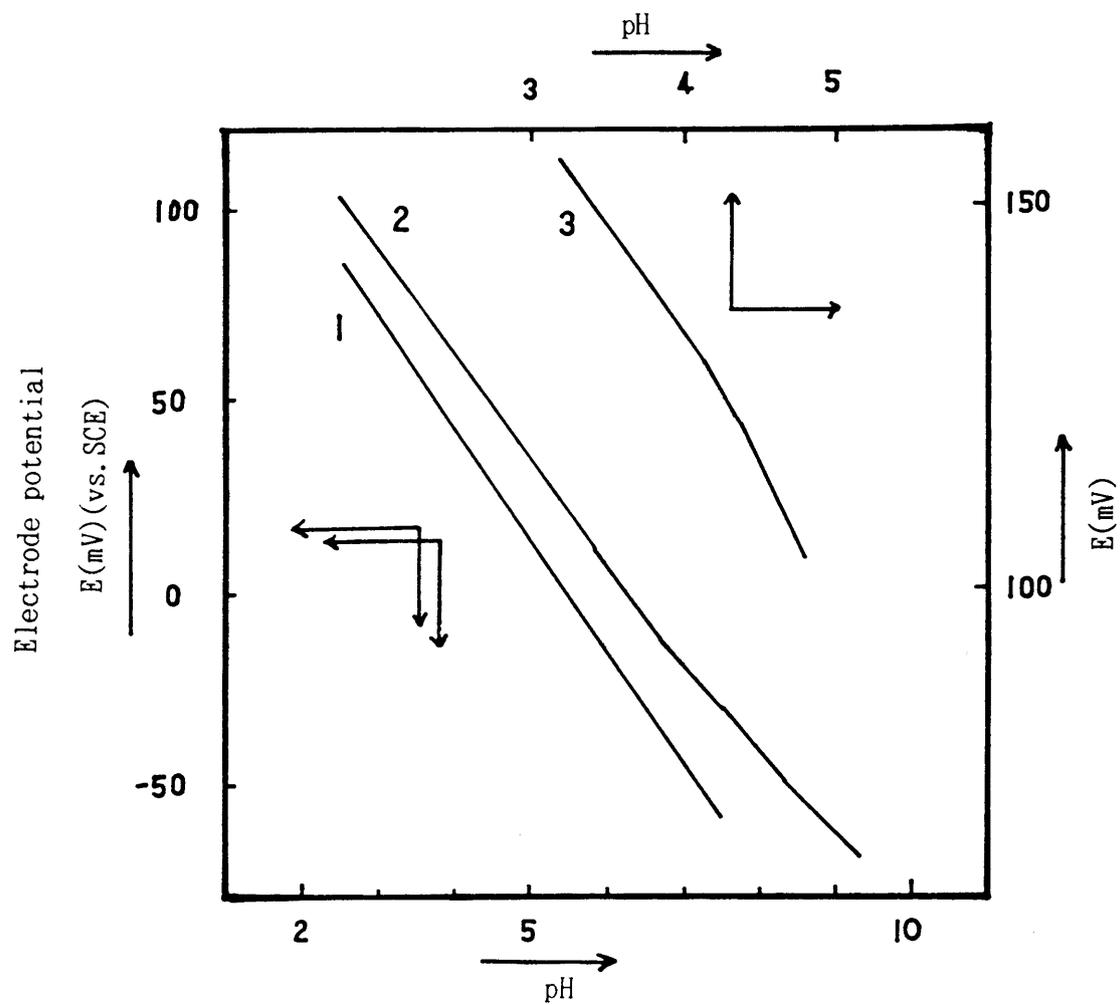


Fig.54 The potentials of Cu(II) ion selective electrode

1. $C_{XO}=1.53 \times 10^{-3}M$; 2. $C_{XO}=1.53 \times 10^{-3}M$, $C_{Cu}=3.09 \times 10^{-4}M$

3. $C_{XO}=1.53 \times 10^{-3}M$, $C_{Cu}=2.88 \times 10^{-3}M$

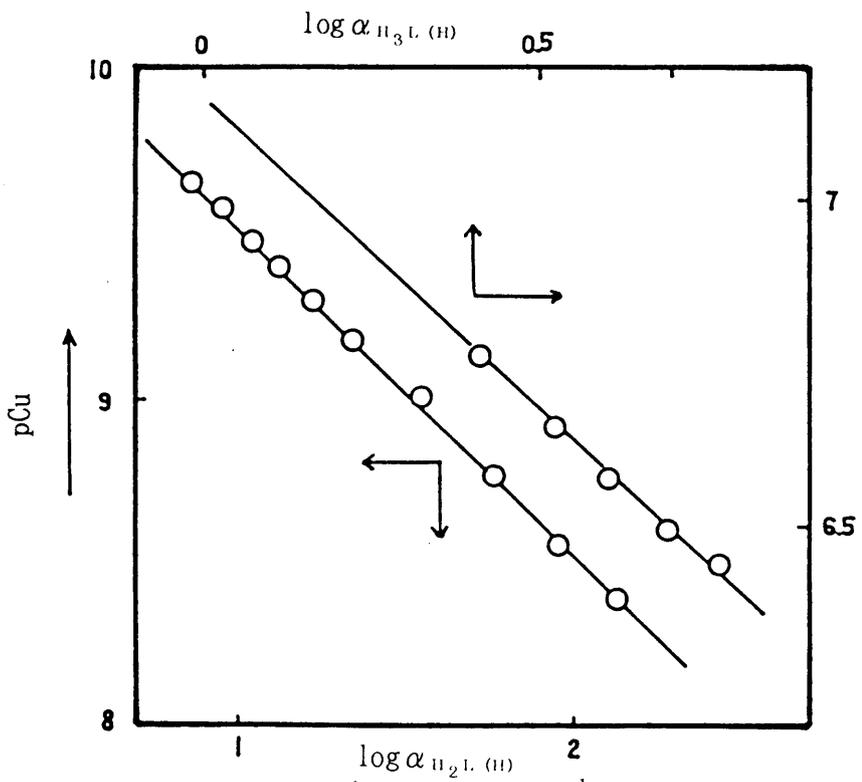


Fig. 55 pCu vs log α_{H₃L(H)} or log α_{H₂L(H)}

又、錯体の全濃度を $[(CuH_2L)']$ とすると

$$K' = \frac{[(CuH_2L)']}{[Cu][H_2L]} = \frac{([CuH_3L] + [CuH_2L])}{[Cu][H_2L]}$$

$$= \frac{[CuH_2L]}{[Cu][H_2L]} \left(1 + \frac{K_{CuH_3L}^H}{[H]} \right) \quad \dots\dots (13)$$

となり、 $\log K'$ に対して $-\log [H^+]$ をプロットすると Fig. 56 の曲線が得られた。pH < 2.8 では傾き 1 の直線となり CuH_3L が生成し、pH > 4.5 では CuH_2L が生成していることは Fig. 56 から明らかである。Fig. 56 より

$\log K_{CuH_3L}^H = 3.30$ が得られた。この値は pH 滴定法から得た値とかなりよく一致している。

XO に対して銅 (II) が過剰に存在する場合

モル比法及び連続変化法の結果から XO に対して銅 (II) が 2 倍量以上存在すると銅 (II) : XO = 2 : 1 の組成をもつ錯体が生成する。XO ($0.934 \times 10^{-3}M$) 溶液 (曲線 1) 及び XO ($0.934 \times 10^{-3}M$) と銅 (II) ($3.76 \times 10^{-3}M$) を含む溶液 (曲線 2) を 0.2M 水酸化ナトリウム標準溶液で滴定した場合の滴定曲線を Fig. 57 に示す。0.934 $\times 10^{-3}M$ XO 溶液の滴定前の pH は 2.80 であるが、 $3.76 \times 10^{-3}M$ の銅 (II) が存在すると pH は 2.38 に降下する。又、pH 5.5 付近では曲線 1 と 2 に加えられたアルカリの濃度の差は $3C_L$ に相当し、曲線 2 の pH 6.0 までに加えられたアルカリの濃度は $5.60 \times 10^{-3}M$ であり、 $6C_L$ に等しい。これらの事実から pH 2 付近ではすでに Cu_2HL が生成していることがわかるが、pH 滴定法ではその錯体の生成定数を求めることは出来なかった。

XO ($1.38 \times 10^{-5}M$) と銅 (II) ($7.38 \times 10^{-5}M$) を含む溶液の吸収曲線を pH 2.2 から 6.7 まで変化させて測定したところ、極大吸収波長は pH が高くなるにつれて 444 nm から 574 nm に移動し、487 nm に等吸収点をもつ。

(Fig. 58)

これは Cu_2HL からプロトンが解離して Cu_2L が生成するためと考えられる。

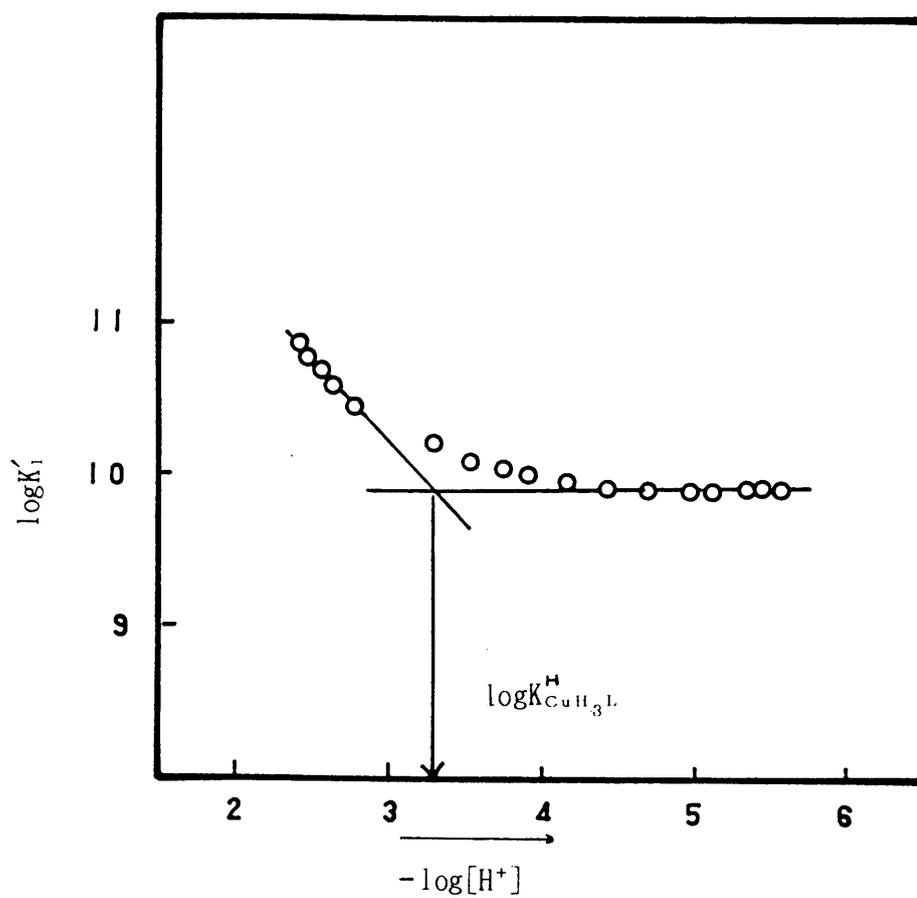


Fig. 56 $\log K'$ vs $-\log[H^+]$

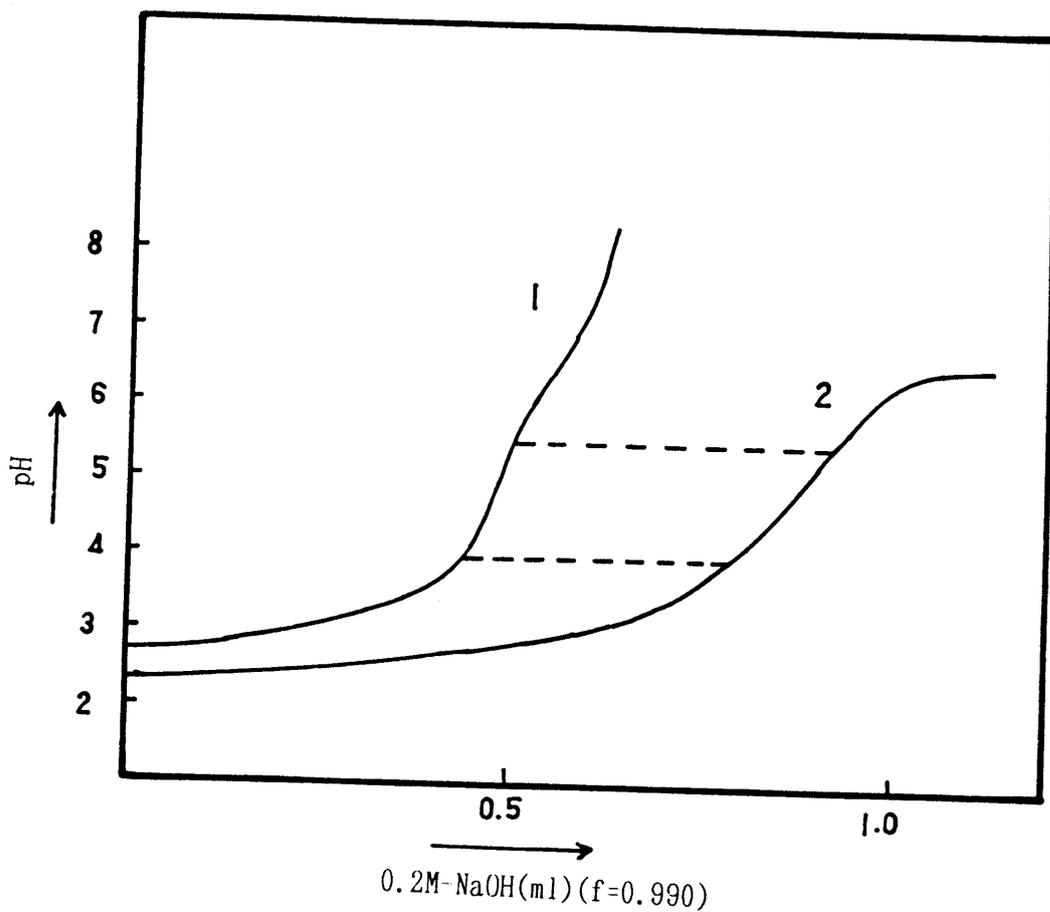


Fig.57 Potentiometric titration curve

1. $C_{XO}=0.934 \times 10^{-3}M$; 2. $C_{XO}=0.934 \times 10^{-3}M, C_{Cu}=3.76 \times 10^{-3}M$

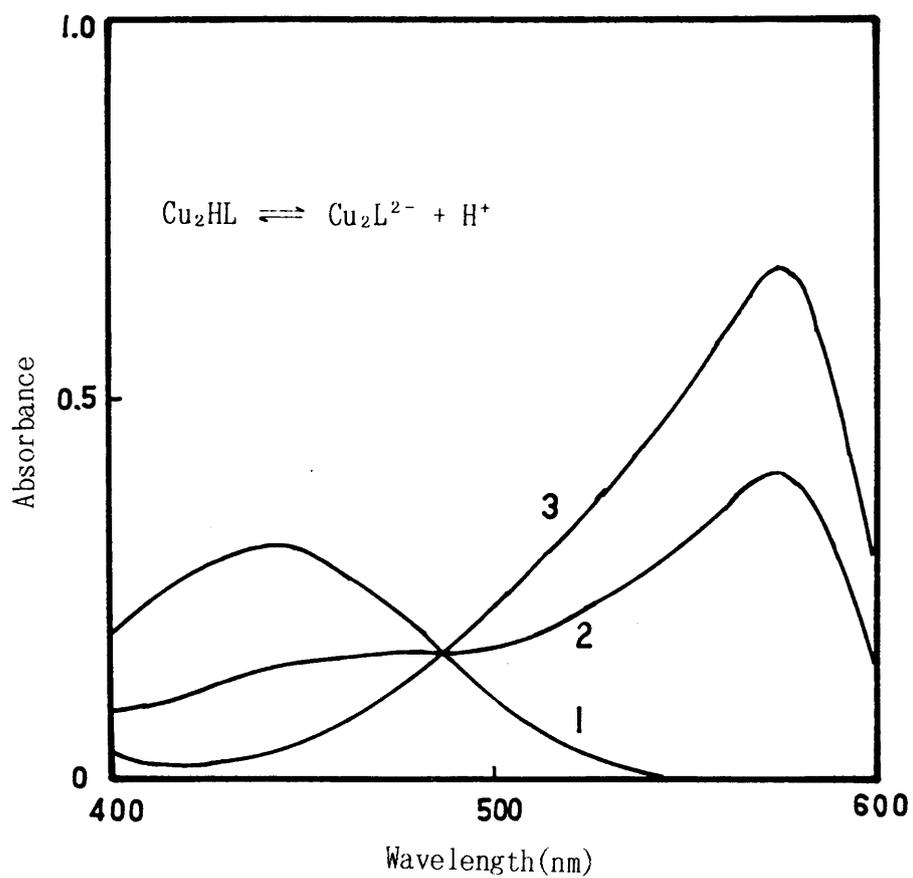
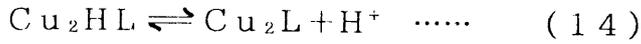


Fig.58 Absorption spectra of $\text{Cu}_2\text{-XO}$ complexes

$C_{\text{XO}}=1.38 \times 10^{-5} \text{M}$, $C_{\text{Cu}}=7.38 \times 10^{-5} \text{M}$; pH: (1).2.22, (2).4.78, (3).6.74



$$K_{\text{Cu}_2\text{HL}}^{\text{H}} = \frac{[\text{Cu}_2\text{HL}]}{[\text{Cu}_2\text{L}][\text{H}]} \quad \dots\dots (15)$$

Cu_2L 錯体のモル吸光係数は $5.0 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (574 nm) である。吸光度法及び pH 滴定法により $\log K_{\text{Cu}_2\text{HL}}^{\text{H}} = 4.55$ が得られた。

銅 (II) イオン選択性電極を用いて銅 (II) ($2.88 \times 10^{-3} \text{ M}$) と XO ($1.53 \times 10^{-3} \text{ M}$) を含む溶液の pH を 3 から 8 まで変えて、電位を測定した。(Fig. 54)

この条件では主として 銅 (II) : XO = 2 : 1 錯体が生成していると考えられ、先の吸光度法及び pH 滴定法の結果から pH 4 以下では主として Cu_2HL が生成していることから Cu_2HL の生成定数を

$$K_{\text{Cu}_2\text{HL}}^{\text{III}} = \frac{[\text{Cu}_2\text{HL}]}{[\text{Cu}]^2 [\text{HL}]} \quad \dots\dots (16)$$

とし、両辺の対数をとると、式 (17) が得られる。

$$\log K_{\text{Cu}_2\text{HL}}^{\text{III}} = 2 \text{ pCu} + \log \frac{[\text{Cu}_2\text{HL}]}{[(\text{HL})']} + \log \alpha_{\text{HL}}^{(\text{H})} \quad \dots\dots (17)$$

pH 3 から 4 で測定した pCu を $\log \alpha_{\text{HL}}^{(\text{H})}$ に対してプロットすると傾き 1/2 の直線が得られたので (Fig. 59)、 Cu_2HL が生成していることは明らかであり、

$\log K_{\text{Cu}_2\text{HL}}^{\text{HL}} = 21.4$ が得られた。pH 6 以上では正確な電位が測定できないので

$K_{\text{Cu}_2\text{L}}^{\text{I}}$ を求めることはできなかった。

得られた定数を Table 23 にまとめて示す。

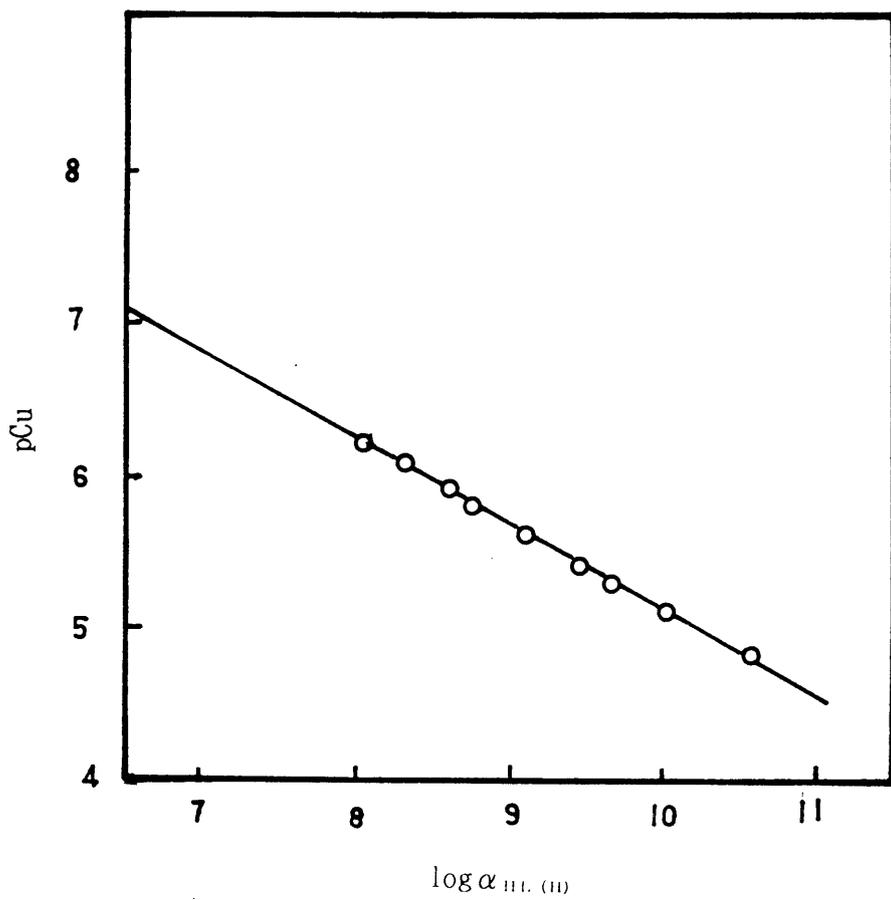


Fig.59 pCu vs $\log \alpha_{HL(O)}$

Table 23 Equilibrium constants of formation of Copper(II) complexes with
XO at 25±1°C, μ=0.1(KNO₃)

Reaction		log K	Method
CuH ₂ L + H ⇌ CuH ₃ L	$K_{\text{CuH}_3\text{L}}^{\text{H}}$	3.30	3
		3.00	1
CuHL + H ⇌ CuH ₂ L	$K_{\text{CuH}_2\text{L}}^{\text{H}}$	5.55	1
		5.70	2
CuL + H ⇌ CuHL	$K_{\text{CuHL}}^{\text{H}}$	8.25	1
Cu + H ₃ L ⇌ CuH ₃ L	$K_{\text{CuH}_3\text{L}}^{\text{H}_3\text{L}}$	6.55	3
Cu + H ₂ L ⇌ CuH ₂ L	$K_{\text{CuH}_2\text{L}}^{\text{H}_2\text{L}}$	9.92	3
Cu + HL ⇌ CuHL	$k_{\text{CuHL}}^{\text{HL}}$	14.8	4(a)
Cu + L ⇌ CuL	$K_{\text{CuL}}^{\text{L}}$	18.8	4(b)
Cu ₂ L + H ⇌ Cu ₂ HL	$K_{\text{Cu}_2\text{HL}}^{\text{H}}$	4.55	1
		4.55	2
2Cu + HL ⇌ Cu ₂ HL	$K_{\text{Cu}_2\text{HL}}^{\text{HL}}$	21.4	3
2Cu + L ⇌ Cu ₂ L	$K_{\text{Cu}_2\text{L}}^{\text{L}}$	29.1	4(c)
Cu + CuHL ⇌ Cu ₂ HL	$K_{\text{Cu}_2\text{HL}}^{\text{Cu}}$	6.6	4(d)
Cu + CuL ⇌ Cu ₂ L	$K_{\text{Cu}_2\text{L}}^{\text{Cu}}$	10.3	4(e)

Method

1. pH 滴定法

2. 吸光度法

3. 銅(II)イオン選択性電極による電位差法

$$4. (a) K_{CuHL}^{HL} = K_{CuH_2L}^{H_2L} / K_{CuHL}^H \cdot K_{a5}$$

$$(d) K_{Cu_2HL}^{Cu} = K_{Cu_2HL}^{HL} / K_{CuHL}^{HL}$$

$$(b) K_{CuL}^L = K_{CuHL}^{HL} / K_{CuHL}^H \cdot K_{a6}$$

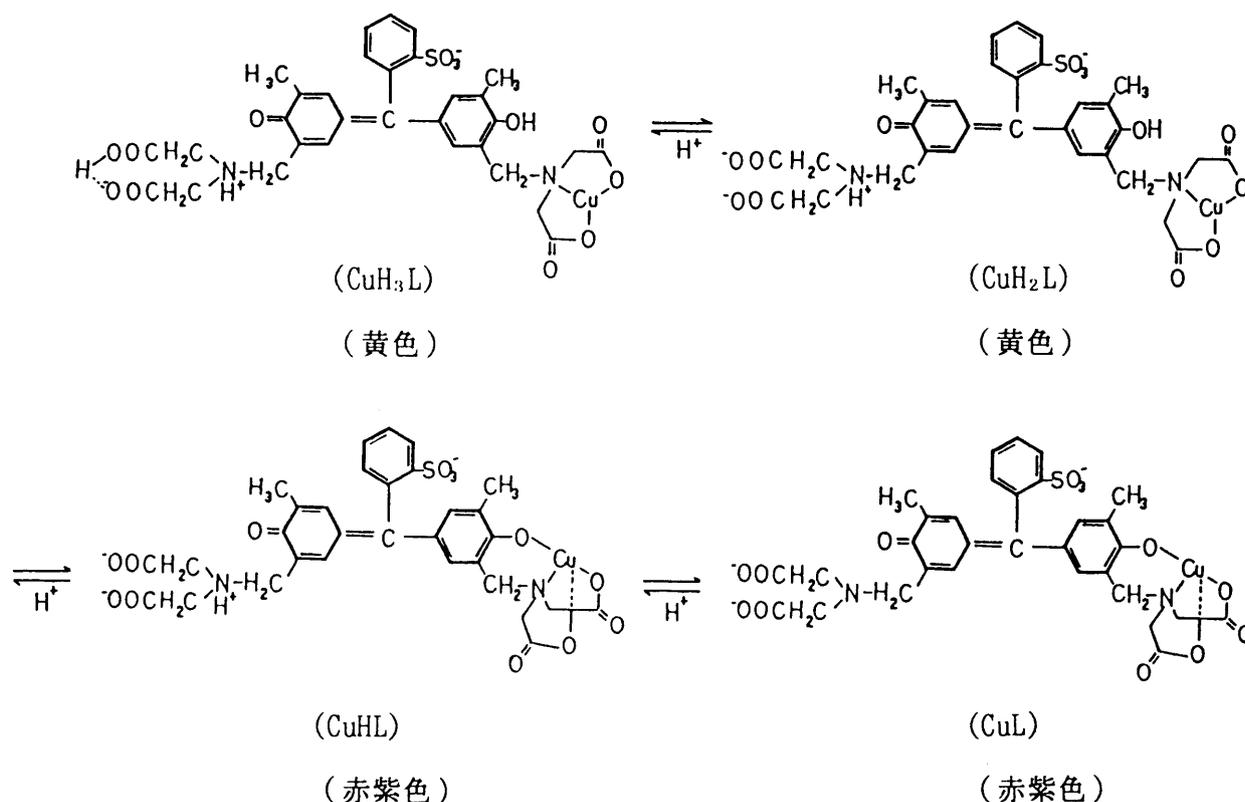
$$(e) K_{Cu_2L}^{Cu} = K_{Cu_2L}^L / K_{CuL}^L$$

$$(c) K_{Cu_2L}^L = K_{Cu_2HL}^{HL} / K_{Cu_2HL}^H \cdot K_{a6}$$

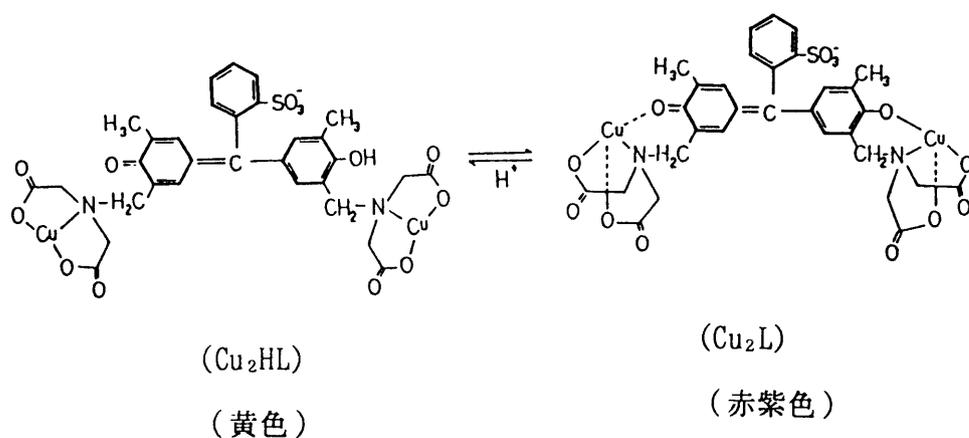
6.1.3 考察

銅 (I I) - X O 錯体の生成定数及びプロトン付加の平衡定数を p H 滴定法、吸光度法及び銅 (I I) イオン選択性電極による電位差法により求めたが、それぞれの方法によって得られた値はかなりよく一致した。

X O 溶液は p H 6 以下では黄色を呈するが p H 6 . 5 以上では赤紫色を呈する。これはフェノール性の水酸基のプロトンが解離するためである。銅 (I I) に対して X O が 5 倍量以上存在すると、p H 2 付近銅 (I I) と X O の比が 1 : 1 の錯体 CuH_3L を生成するが、これは X O と同様黄色を呈する。従って、これは X O の一方のイミノ二酢酸基に銅 (I I) の配位した錯体と考えられる。p H が 3 以上になると銅 (I I) の配位していない方のイミノ二酢酸のプロトンが解離して CuH_2L を生成する。p H 5 . 5 以上では 錯体は赤紫色を呈するが、これは CuH_2L の X O の水酸基のプロトンが解離して酸素が銅 (I I) に配位した $CuHL$ が生成するためである。更に p H が高くなると銅 (I I) が配位していない方のイミノ二酢酸基の窒素に付加したプロトンが解離して CuL を生成するが、 $CuHL$ 同様赤紫色を呈する。



又、XOに対して銅(II)が2倍量以上存在すると銅(II) : XO = 2 : 1 錯体を生成する。この場合pH2付近でXOの両方のイミノ二酢酸に銅(II)の配位したCu₂HLが生成する。この錯体はXOと同様黄色を呈するが、pH4.5以上になるとXOのフェノール性水酸基のプロトンが解離して酸素が銅(II)に配位することによってCu₂Lを生成し、赤紫色を呈する。



又、XOの両方のイミノ二酢酸及び水酸基の酸素が銅(II)に配位した錯体Cu₂LはXOの片側に1個の銅(II)が配位したCuHLに比べて共鳴構造が有利であるために、モル吸光係数はCuHLよりも1.6倍程大きくなっている。

6.2 銅(II)-XOのヘキサミン存在下におけるEDTAによる置換反応

XOを指示薬として銅(II)をEDTAで滴定する時、ヘキサミン系緩衝液を用いると酢酸系緩衝液を用いる場合に比べてXOの変色速度が遅くなることが報告されている。

^{1) 8)}そこで著者は銅(II)-XO錯体のEDTAによる置換反応をMES [2-(N-モルフォリノ)エタンスルホン酸]緩衝液及びヘキサミン緩衝液中で行ない、ヘキサミンが存在した時指示薬XOの変色速度が遅くなる機構について検討した。⁹⁾

6.2.1 試薬及び装置

試薬

ヘキサミンは特級試薬を五酸化リンを用いて乾燥したものをそのまま用いた。ヘキサミンの純度は過剰の濃度既知の塩酸酸性下で水酸化ナトリウム標準溶液を用いて滴定した結果99%程度であった。その他の試薬はすでに述べたとおりである。実験は $25 \pm 1^\circ\text{C}$ で行ない、イオン強度は0.1M KNO_3 に調節した。

装置

Union Giken Stopped-Flow Spectrophotometer Type RA-401型、その他の装置は先に述べたとおりである。

6.2.2 実験及び考察

銅(II)-XO錯体の組成

6.1.2で述べたように、XOに対して銅(II)が2倍量以上存在している場合、銅(II)-XO錯体は2:1錯体を主として生成する。pH2ですでに Cu_2HL が生成しており、pHが高くなるに従い $\text{Cu}_2\text{HL} \rightleftharpoons \text{Cu}_2\text{L} + \text{H}^+$ のようにプロトンが解離し、極大吸収波長は440nmから574nmへ移動する。錯体の色は黄色から赤紫色へ変化する。

$$K_{\text{Cu}_2\text{HL}} = \frac{[\text{Cu}_2\text{HL}]}{[\text{Cu}_2\text{L}][\text{H}]} = 10^{4.55}$$

ヘキサミン存在下 pH6 での $\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}$ の吸収スペクトルを Fig. 60 に示す。

Fig. 60 に示すように、ヘキサミンが存在する時の $\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}$ の極大吸収波長はヘキサミンが存在しない時の $\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}$ の極大吸収波長 574 nm から 578 nm へ移動し、更にモル吸光係数も増大した。従ってヘキサミンが銅 (II) - XO 錯体に配位し、混合配位子錯体を生成していると考えられる。そこで混合配位子錯体の生成定数を決定した。混合配位子錯体の生成定数を

$$K_{\text{Cu}_2\text{XOL}_n}^{nL} = \frac{[\text{Cu}_2\text{XOL}_n^{2-}]}{[\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}][L]^n} \quad \dots\dots (18)$$

とし、両辺の対数をとると式 (19) が得られる。

$$\log K_{\text{Cu}_2\text{XOL}_n}^{nL} = \log \frac{[\text{Cu}_2\text{XOL}_n^{2-}]}{[\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}]} - n \log [L] \quad \dots\dots (19)$$

ここで L は配位していない遊離のヘキサミンを表す。

pH6.00 から 6.30 でヘキサミンの濃度を 10^{-3}M から 10^{-1}M まで変化させて 578 nm で $\text{Cu}_2\text{XOL}_n^{2-}$ の吸光度を測定した。 $\log [L]$ に対して $\log [\text{Cu}_2\text{XOL}_n^{2-}] / [\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}]$ をプロットすると、傾き 1 の直線が得られ、 $\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}$ に対して 1 分子のヘキサミンが配位していることがわかった。

$K_{\text{Cu}_2(\text{XO})\text{L}}^L = 10^{2.14}$ が得られた。なおヘキサミンの酸解離定数 pK_a は 4.98 を用いた。

Cu_2XO の EDTA のよる置換反応速度

MES 緩衝液中での置換反応速度を測定した XO ($2.10 \sim 5.25 \times 10^{-5}\text{M}$)、銅 (II) ($3.87 \sim 7.47 \times 10^{-5}\text{M}$) と 0.02 M MES 緩衝液を含む溶液と EDTA ($3.56 \sim 14.25 \times 10^{-4}\text{M}$) 溶液と 0.02 M 緩衝液を含む溶液を混合し、574 nm の吸光度の減少をストップドフロー法により時間に対して測定した。溶液の pH は 4.82 ~ 6.00 まで変化させた。

$\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}$ の EDTA による置換反応は式 (20) に表されるように進行する。



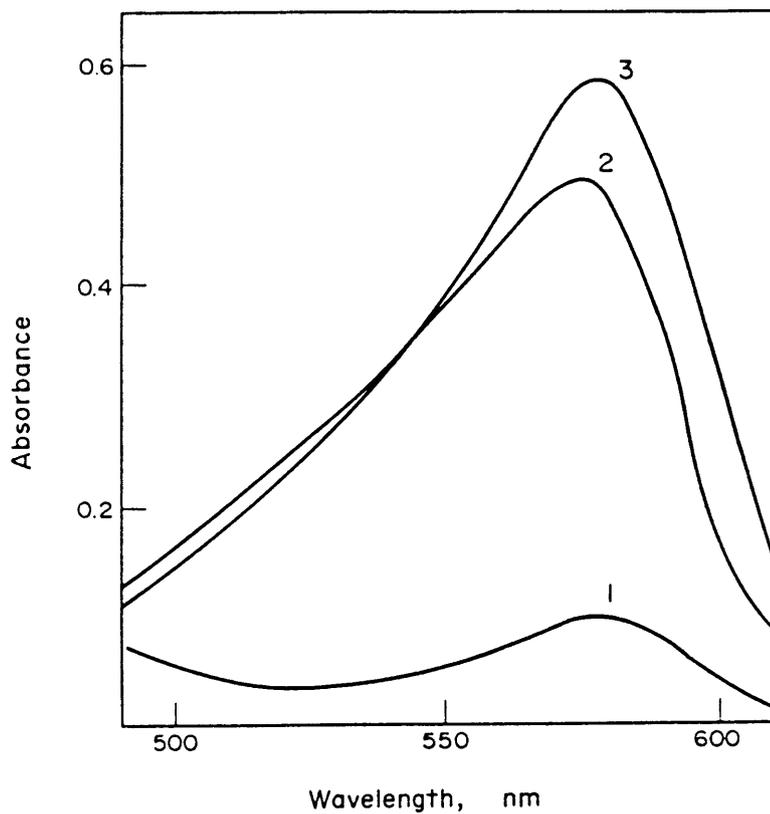


Fig. 60 Spectra of Cu-XO chelates. $C_{Cu} 1.6 \times 10^{-4}M$, $C_{XO} 1.1 \times 10^{-5}M$. 1, XO blank; 2, Cu_2XO^{2-} ; 3, Cu_2XOL^{2-} , $C_{hex} 2.0 \times 10^{-1}M$, pH 6.0.

反応速度式は、式(21)で表される。

$$-\frac{d[\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}]}{dt} = k_{0(\text{H,R,M,Y})}[\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}] \quad \dots\dots (21)$$

ここで、 $k_{0(\text{H,R,M,Y})}$ は水素イオン濃度、XO濃度、銅(II)の濃度、EDTAの濃度を含む条件速度定数である。式(21)より

$$\log(A_t - A_\infty) = -\frac{k_{0(\text{H,R,M,Y})}}{2.303}t + \log(A_0 - A_\infty) \quad \dots\dots (22)$$

ここで、 A_0 、 A_t 、 A_∞ は反応時間が0、 t 、 ∞ の時の吸光度を表す。

時間 t に対して $\log(A_t - A_\infty)$ をプロットすると、全反応の90%まで直線となったのでこの直線の傾きより $k_{0(\text{H,R,M,Y})}$ の値を求めた。得られた値をTable 24に示す。Table 24からわかるように、 k_0 の値はEDTAの濃度に対して1次であるが、水素イオン濃度、XO濃度、銅(II)の濃度に対しては依存性を示さなかった。

Table 24 First-order conditional rate constants k_o (H, R, M, Y)
 25°C, $\mu=0.1$

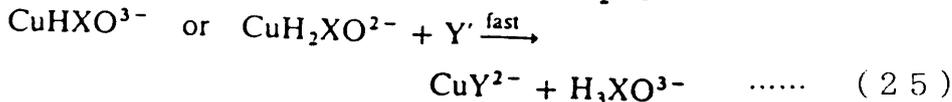
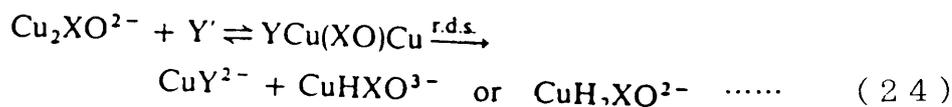
$10^4 \times C_{EDTA}, M$	$10^5 \times C_{XO}, M$	$10^5 \times C_{Cu}, M$	pH	$10 \times k_o$ (H, R, M, Y), sec^{-1}		
3.56	2.10	3.87	4.82	2.90		
			5.59	2.65		
			5.68	2.68		
			5.80	2.46		
			5.85	2.41		
			6.00	2.30		
			5.39	2.74		
5.34	3.15	3.87	5.39	2.74		
	4.20		2.78			
	5.25		2.43			
5.34	2.10	3.87	4.82	4.32		
			5.51	4.03		
			5.80	4.29		
			5.85	4.22		
			6.00	4.34		
			5.39	4.09		
			4.20	3.83		
			2.10	5.42	5.68	4.09
			5.81	5.85	4.17	
			7.74	5.68	4.09	
7.12	3.15	3.87	5.39	5.21		
			5.80	5.60		
			5.85	5.10		
			6.00	5.30		
			5.39	5.47		

	4.20		5.28
	5.25		5.89
10.7	2.10	4.82	8.64
		5.80	8.24
		5.85	7.90
		6.00	8.00
	3.15	5.39	8.46
	4.20		8.24
	5.25		8.59
14.3	2.10	5.80	10.3
		5.85	10.7
	3.15	5.39	11.7
	4.20		10.6
	5.25		11.7

従って式(21)は次のように書き替えられる。

$$-\frac{d[\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}]}{dt} = k_1[\text{Y}'][\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}] \quad \dots\dots (23)$$

ここで、Y' は銅(II)と錯生成を行っていない遊離のEDTAの全濃度を表し、この実験条件では $[\text{Y}'] = [\text{H}_2\text{Y}^{2-}] + [\text{HY}^{3-}]$ である。速度定数 $k_1 = 7.84 \times 10^2 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1}$ が得られた。従って $\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}$ のEDTAによる置換反応機構は次のように考えられる。

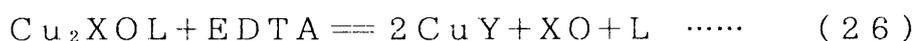


すなわち、 $\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}$ 錯体から最初の銅(II)がはずれる反応が律速段階(r.d.s.)である。

先に述べた銅(II)イオン選択性電極による電位差の測定の結果から、このpH範囲では(24)式で生成した1:1錯体 CuHXO^{3-} か $\text{CuH}_2\text{XO}^{2-}$ のプロトン付加が銅(II)とXO間の結合を弱めると考えられる。又、2:1錯体(Cu_2XO)の安定性の大きさから考えても、式(24)、(25)の置換反応機構は妥当なものと考えられる。

ヘキサミンが存在した場合の $\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}$ のEDTAによる置換反応機構

XO($2.10 \sim 5.25 \times 10^{-5}\text{M}$)溶液、銅(II)($3.87 \sim 7.74 \times 10^{-5}\text{M}$)溶液とヘキサミン($2.83 \times 10^{-4}\text{M} \sim 2.19 \times 10^{-1}\text{M}$)溶液を含む溶液とEDTA($3.56 \sim 14.25 \times 10^{-4}\text{M}$)溶液を、それぞれpHを0.02MMES-NaOH緩衝液で5.77から6.24まで変化させて混合し時間に対して578nmにおける吸光度の減少を測定した。置換反応式は



であり、反応速度式は式(27)で表される。

$$-\frac{d[\text{Cu}_2\text{XOL}^{2-}]}{dt} = k_{0(\text{H,R,M,Y,L})}[\text{Cu}_2\text{XOL}^{2-}] \dots\dots (27)$$

得られた結果を Table 25 に示す。

Table 25 First-order rate constants k_o (H, R, M, Y, L)

25°C, $\mu=0.1$

$10^5 \times C_{Cu}, M$	$10^5 \times C_{XO}, M$	$10^4 \times C_{EDTA}, M$	$10^3 \times C_L, M$	pH	$10 \times k_o$ (H, R, M, Y, L), sec^{-1}
3.87	2.10	3.56	0.283	5.84	2.15
			3.01		1.85
				6.00	1.85
			6.02	5.77	1.24
			12.0	5.92	0.973
			30.1	6.00	0.573
			42.1	6.03	0.456
		5.34	0.283	5.84	3.96
			3.01		2.85
				6.00	2.56
			6.02	5.77	2.23
			30.1	6.00	1.02
			60.2	5.94	0.308
		7.13	0.283	5.84	4.99
			3.01		3.80
				6.00	3.52
			6.02	5.77	2.82
			12.0	5.92	2.13
			30.1	6.00	1.22
			42.1	6.03	0.798
			60.2	5.94	0.638
		10.7	0.283	5.84	7.91
			3.01		5.81
				6.00	6.26

			6.02	5.77	4.10
			12.0	5.92	3.14
			30.1	6.00	1.92
			42.1	6.03	1.22
			60.2	5.94	1.01
	14.3		0.283	5.84	10.23
			3.01		9.10
				6.00	8.59
	3.15		6.02	5.77	5.36
			12.0	5.92	4.24
			30.1	6.00	2.66
			42.1	6.03	1.62
			60.2	5.94	1.30
3.09	1.32	108	43.2	6.16	10.5
			65.6		8.63
			87.4		6.57
			131		4.52
			219		2.52

k_0 (H. R. M. Y. L.) の値はXOの濃度、銅 (I I) の濃度及び水素イオンの濃度に対して依存性はなかった。EDTAの濃度に対して1次の依存性を示し、ヘキサミンの濃度に対しては逆1次の依存性を示した。従って、反応速度式(27)は式(28)のように書くことができる。

$$-\frac{d[\text{Cu}_2\text{XOL}^{2-}]}{dt} = k_2 \frac{[\text{Y}][\text{Cu}_2\text{XOL}^{2-}]}{[\text{L}]} \quad \dots\dots (28)$$

$k_2 = 5.39 \text{ sec}^{-1}$ が得られた。これらのことから、ヘキサミンが存在した場合のEDTAによる置換反応は最初に



の解離がおこり、次いで先に述べたヘキサミンが存在しない場合の $\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}$ のEDTAによる置換反応が進行する。

また、式(18)、(23)、(28)から

$k_1 = k_2 K_{\text{Cu}_2\text{XOL}}^L = 5.39 \times 10^{2.14} = 7.44 \times 10^2 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{sec}^{-1}$ が得られ、この $k_1 = 7.44 \times 10^2 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{sec}^{-1}$ の値は、ヘキサミンの存在しない場合に得られた $k_1 = 7.88 \times 10^2 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{sec}^{-1}$ とよい一致を示している。この事実はこれまで述べた置換反応機構が妥当なものであることを示している。

ヘキサミン濃度の低いところでは、 $\text{Cu}_2\text{XO}^{2-}$ と $\text{Cu}_2\text{XOL}^{2-}$ 錯体が生成していると考えられ、従ってこの場合の反応速度式は式(30)で表される。

$$-\frac{d[(\text{Cu}_2\text{XO})']}{dt} = k[\text{Y}][(\text{Cu}_2\text{XO})'] \\ = \left(\frac{k_1}{1 + K_{\text{Cu}_2\text{XOL}}^L[\text{L}]} \right) [\text{Y}][(\text{Cu}_2\text{XO})'] \quad \dots\dots (30)$$

ここで $(\text{Cu}_2\text{XO})'$ は銅(II)-XO錯体の全濃度を示す。式(30)の $\log[\text{L}]$ に対して $\log k$ をプロットしたものをFig. 61に示す。

Fig. 61からカーブフィッティング法により $K_{\text{Cu}_2\text{XOL}}^L$ 、 k_1 及び k_2 の値がそれぞれ $10^{2.18}$ 、 $7.76 \times 10^2 \text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{sec}^{-1}$ 、 5.13 sec^{-1} が得られた。これらの値は先に求めた値とそれぞれ良い一致を示している。

又、Fig. 61はヘキサミンが 10^{-2}M 以上存在すると、XOの変色速度が著しく遅くなることを示している。

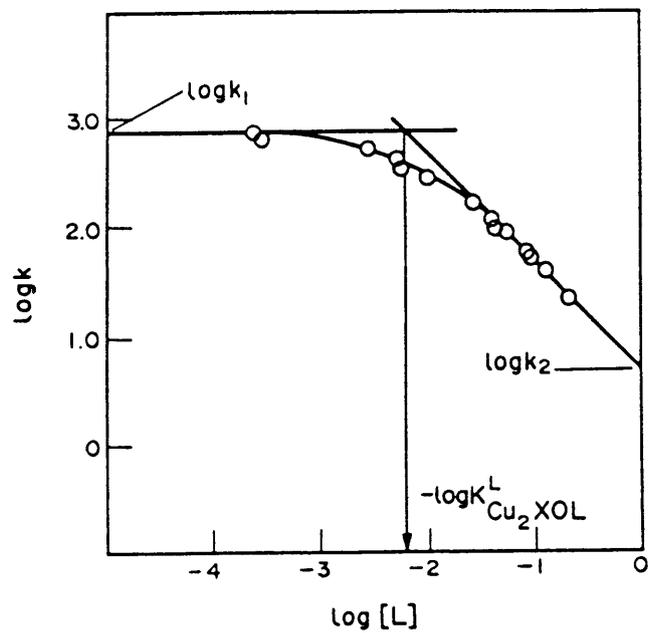


Fig.61 Plot of $\log k$ vs. $\log [L]$. Solid line is the theoretical curve.

6.3 銅(II)-XOのフェナントロリン存在下におけるEDTAによる置換反応 について

XOを指示薬とし銅(II)をEDTAで滴定する時、1, 10-フェナントロリン(phen)が少量存在するとXOの変色速度が著しく速くなることが知られている。¹⁾⁸⁾先にPANを指示薬として銅(II)をEDTAで滴定する場合少量のフェナントロリンが存在するとPANの変色速度が著しく速くなり、その機構はCu-PAN-phenの混合配位子錯体の形成が関与していることが明らかにされた。¹⁰⁾XOを指示薬とした場合にも同様な反応機構が考えられるのでCu-XO-phen混合配位子錯体の平衡及びEDTAによる置換反応機構について検討した。¹¹⁾

6.3.1 試薬及び装置

1, 10-フェナントロリンは市販品をエタノール-水溶液から再結晶したものをを用いた。その他の試薬は先に述べた通りである。

実験は $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、イオン強度は0.1 (KNO_3)で行なった。装置は6.2.1.で述べた通りである。

6.3.2 実験及び結果

Cu₂XO-phen混合配位子錯体の組成

XOに対して銅(II)が2倍量以上存在すれば、pH5.5以上でCu₂XO錯体を生成しており、その極大吸収波長は574nmである。Cu₂XO錯体を含む溶液に1, 10-フェナントロリンを加えると、その極大吸収波長は585nmに移動し、そのモル吸光係数はCu₂XO錯体と比べて20%程大きくなる。(Fig. 62)

又、モル比法によるCu₂XO-phen.の組成はFig. 63からわかるように(Cuphen)₂XOであった。

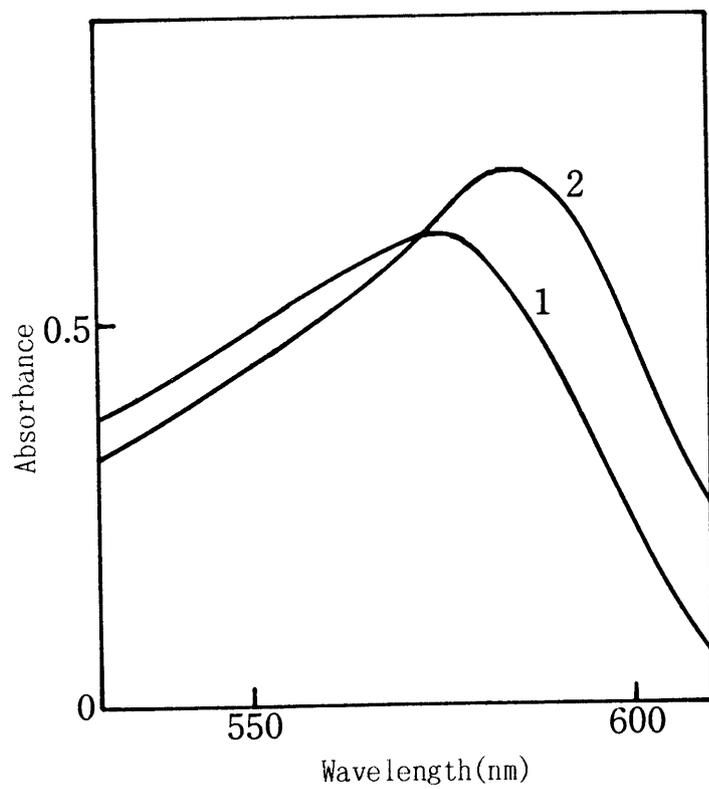


Fig.62 Absorption spectra of Cu_2XO and $(\text{Cuphen})_2\text{XO}$

$C_{\text{XO}}=1.32 \times 10^{-5}\text{M}$, $C_{\text{Cu}}=2.58 \times 10^{-5}\text{M}$,

(1) Cu_2XO , pH 6.04; (2) $(\text{Cuphen})_2\text{XO}$, $C_{\text{P h e n}}=$

$3.29 \times 10^{-5}\text{M}$, pH 7.00

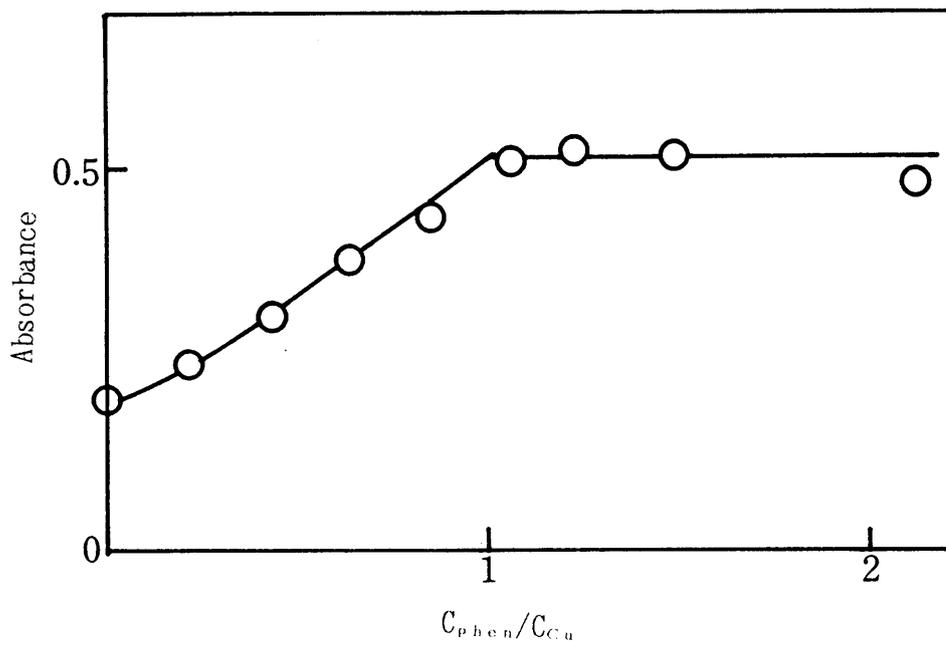
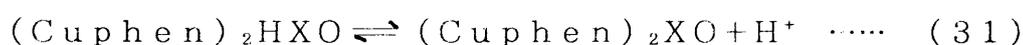


Fig. 63 Molar-ratio method of the mixed-ligand complex

$C_{XO}=1.32 \times 10^{-5}M, C_{Cu}=2.58 \times 10^{-5}M, pH\ 6.93$

銅(II)-XO錯体に対して2.5倍量の1,10-フェナントロリンを含む溶液の種々のpHにおける吸収スペクトルをFig. 64に示した。その極大吸収波長はpHが高くなるに従い、440nmから585nmへ移動し、等吸収点を492nmに有する。

1,10-フェナントロリンが存在しない場合、pH4.5以下では銅(II)-XOはCu₂HXO錯体を形成しており、その極大吸収波長は444nmである。これらのことから、低いpHではCu(phen)₂HXO錯体を生成しており、pHが高くなるにつれ(Cuphen)₂HXO錯体のプロトン解離がおこるものと考えられる。pH4.5からpH7.0で次の平衡が存在し



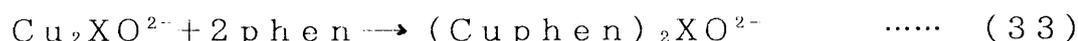
その平衡定数は式(32)で表される。

$$K_{(\text{Cuphen})_2\text{Hxo}}^{\text{H}} = \frac{[(\text{Cuphen})_2\text{Hxo}]}{[(\text{Cuphen})_2\text{xO}][\text{H}]} \quad \dots\dots (32)$$

pHに対して585nmの吸光度をプロットすることにより $K_{(\text{Cuphen})_2\text{HXO}}^{\text{H}} = 10^{5.7}$ を得た。 $K_{\text{Cu}_2\text{HXO}}^{\text{H}} = 10^{4.55}$ と比べて、1,10-フェナントロリンが存在する場合のプロトン付加定数は大きくなっている。

Cu₂XOの1,10-フェナントロリンによる置換反応

ストップドフロー法により大過剰の1,10-フェナントロリンを用いてCu₂XOの置換反応速度を測定した。反応時間に対する580nmでの吸光度の変化をFig. 65に示す。Cu₂XO溶液と1,10-フェナントロリン溶液を混合すると、Fig. 65に示したように、急激に吸光度は上昇しその後ゆっくり減少している。このことは初期の段階で(Cuphen)₂XO混合配位子錯体が形成されたのちXOがフェナントロリンによって置換されることをしめしている。従って1,10-フェナントロリンによる置換反応は次のように書くことができる。



3この実験条件では反応は完全に進行し逆反応は無視し得る。従って、反応速度式は式(35)のように書き表わせる。

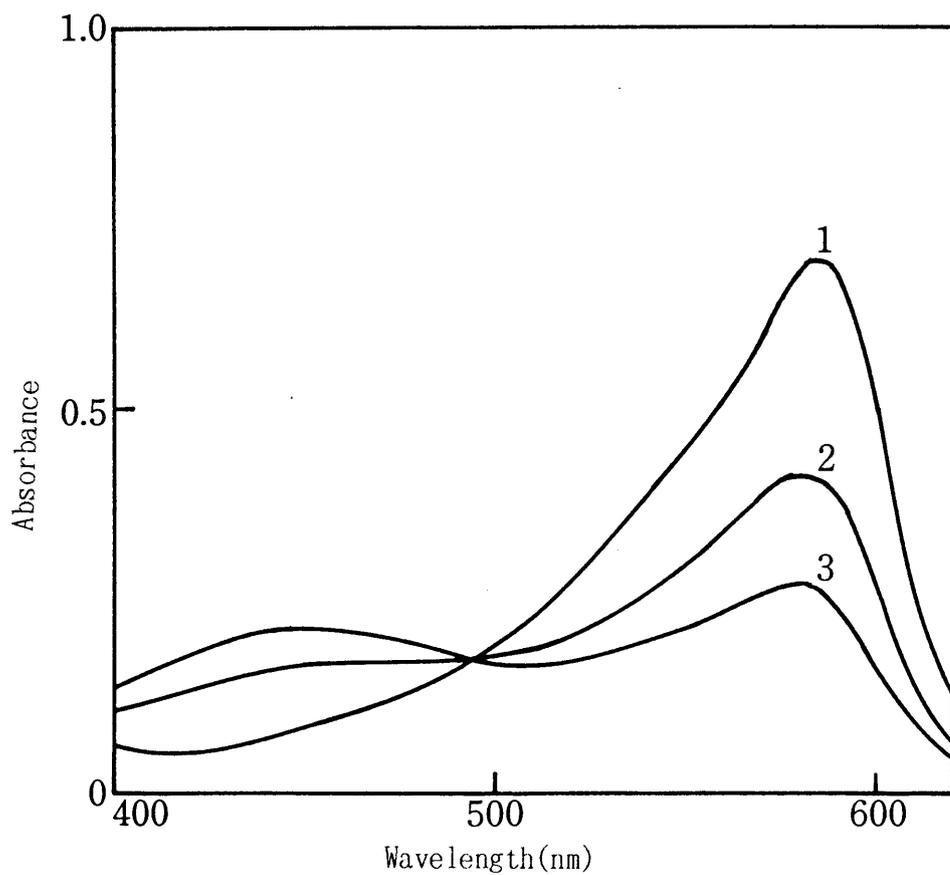


Fig.64 Absorption spectra of the mixed-ligand complexes
at different pH

$C_{XO}=1.32 \times 10^{-5}M$, $C_{Cu}=2.58 \times 10^{-6}M$, $C_{phen}=3.29 \times 10^{-5}M$

pH; (1)7.00; (2)5.98; (3)5.50

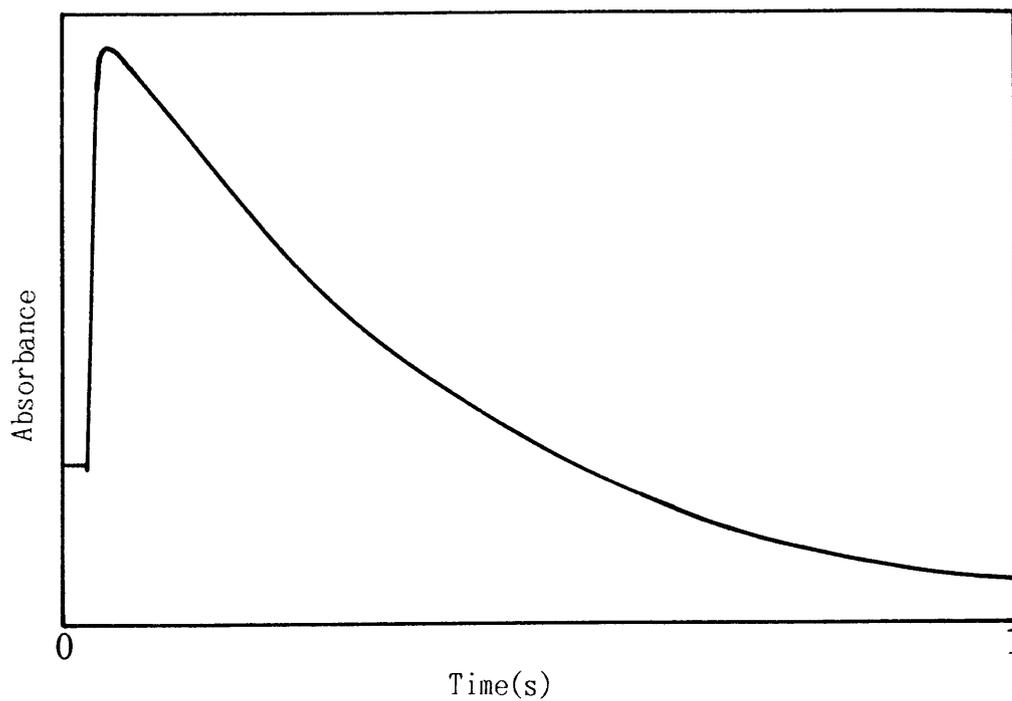


Fig.65 Substitution reaction of Cu_2XO with 1,10-phenanthroline

$C_{\text{XO}}=1.22 \times 10^{-5}\text{M}$, $C_{\text{Cu}}=2.27 \times 10^{-5}\text{M}$, $C_{\text{phen}}=8.67 \times 10^{-4}\text{M}$,

pH 7.43, 580nm

$$-\frac{d[(Cu_2XO)]}{dt} = k_{\alpha(H,phen)}[(Cu_2XO)] \quad \dots\dots (35)$$

ここで $[(Cu_2XO)]$ は銅(II)-XO錯体の全濃度を表し、 $k_{\alpha(H,phen)}$ は水素イオン濃度及び1, 10-フェナントロリン濃度を含んだ条件速度定数である。

又、反応時間 0、t、 ∞ における吸光度をそれぞれ A_0 、 A_t 、 A_∞ と表せば、次式(36)が得られる。

$$\log(A_t - A_\infty) = -\frac{k_{\alpha(H,phen)}}{2.303}t + \log(A_0 - A_\infty) \quad \dots\dots (36)$$

XO ($1.22 \times 10^{-5}M$)と銅(II) ($2.27 \times 10^{-5}M$)を含む溶液と1, 10-フェナントロリン ($6.19 \sim 12.4 \times 10^{-4}M$)を含む溶液をそれぞれpHを6.89から7.60まで変化させて混合し、ストップドフロー法により吸光度変化を測定した。反応時間に対して $\log(A_t - A_\infty)$ をプロットすると少なくとも反応の90%まで直線となった。得られた値をTable 26に示す。

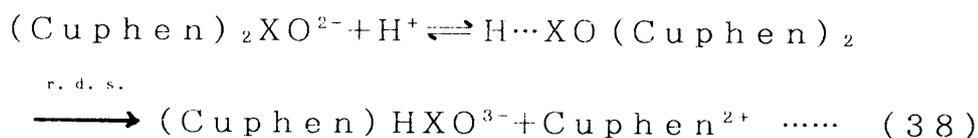
Table 26 First-order conditional rate constants $k_{\alpha(H,phen)}$
 $C_{XO}=1.22 \times 10^{-5}M, C_{Cu}=2.27 \times 10^{-5}M,$
 $25^\circ C, \mu=0.1$

pH	$C_{phen}(\times 10^{-4} M)$	$k_{\alpha(H,phen)}(s^{-1})$
6.89	6.19	7.48
	7.43	7.48
	8.67	7.48
	9.90	7.36
	11.1	7.48
	12.4	7.48
6.94	6.19	6.10
	7.43	6.18
	8.67	6.13
	9.90	6.13
7.04	6.19	5.06
	8.67	5.18
7.19	7.43	3.33
	8.67	3.33
7.43	6.19	2.42
	8.67	2.50
7.60	6.19	1.80
	7.43	1.80
	8.67	1.78

Table 26 わかるように条件速度定数 $k_{o(II, phen)}$ の値は水素イオン濃度に対して1次に比例するが1, 10-フェナントロリンの濃度に対しては依存性を示していない。すなわち

$$k_{o(II, phen)} = k_1 [H] \quad \dots\dots (37)$$

と表すことが出来る。これらの結果から式(31)の平衡は完全に右側に進行しており、次式に示す反応が律速段階である。



生成した $(Cuphen)HXO^{3-}$ の1, 10-フェナントロリンによる置換反応は速いと思われる。速度定数 $k_1 = 5.5 \times 10^7 M^{-1} S^{-1}$ を得た。

フェナントロリン存在下における Cu_2XO のEDTAによる置換反応

Cu_2XO 溶液に対して大過剰の1, 10-フェナントロリンが加えられると、先に述べたように、1, 10-フェナントロリンによる置換反応が進行し、 Cu_2XO 錯体の吸光度が減少する。大過剰のEDTA及び1, 10-フェナントロリン ($6.0 \sim 24.8 \times 10^{-5} M$) を含む溶液を用いて Cu_2XO の置換反応を行なった。この場合の反応速度式は式(39)で表される。

$$-\frac{d[(Cu_2xo)]}{dt} = k_{\alpha(EDTA, H, phen)} [(Cu_2xo)] \quad \dots\dots (39)$$

得られた $k_{o(EDTA, H, phen)}$ の値を Table 27 に示す。

Table 27 First-order conditional rate constants $k_{o(\text{EDTA, H, phen})}$
 $C_{\text{XO}}=1.22 \times 10^{-5} \text{M}$, $C_{\text{Cu}}=2.27 \times 10^{-5} \text{M}$,
 25°C , $\mu=0.1$

C_{EDTA} ($\times 10^{-4} \text{M}$)	C_{phen} ($\times 10^{-5} \text{M}$)	pH	$k_{o(\text{EDTA, H, phen})}$ (s^{-1})
4.48	6.20	6.92	6.49
	12.4		6.90
	18.4		6.96
	24.8		6.77
	3.71	7.00	5.46
	4.21		5.46
	6.20	7.28	3.07
	12.4		2.88
	18.4		3.02
	24.8		2.90
	6.20	7.48	1.87
	12.4		1.84
6.73			2.01
8.97			2.01
11.2			1.96

Table 27 からわかるように $k_{o(\text{EDTA, H, phen})}$ の値は、先の 1, 10-フェナントロリンによる置換反応と同様水素イオン濃度にもみ 1 次の依存性を示した。従って、この場合の置換反応機構も 1, 10-フェナントロリンによる Cu_2XO の置換反応機構と同様である。(Cuphen)HXO の EDTA による速い置換反応が進行する。速度定数 $k_2 = 5.5 \times 10^7 \text{M}^{-1} \text{S}^{-1}$ が得られ、この値は先に得られた $k_1 = 5.5 \times 10^7 \text{M}^{-1} \text{S}^{-1}$ とよい一致を示している。

次に実際の滴定で行なわれる条件と近い条件を設定して測定を行なった。すなわち、 Cu_2XO とその 2.1~3 倍過剰の 1, 10-フェナントロリンとを含む溶液を大過剰の EDTA を含む溶液と混合して置換反応速度を測定した。得られた $k_{o(\text{EDTA, H, phen})}$ の値を Table 28 に示す。

Table 28 First-order conditional rate

constants $k_{o(\text{EDTA, H, phen})}$

$C_{\text{XO}}=1.32 \times 10^{-5} \text{M}, C_{\text{Cu}}=2.58 \times 10^{-5} \text{M},$

$25^\circ\text{C}, \mu=0.1$

C_{EDTA} ($\times 10^{-4} \text{M}$)	C_{phen} ($\times 10^{-3} \text{M}$)	pH	$k_{o(\text{EDTA, H, phen})}$ (s^{-1})	
5.61	2.74	6.89	4.02	
		7.05	2.96	
		7.25	1.92	
	3.29	3.29	6.89	4.68
			7.05	3.26
			7.25	2.11
	3.84	3.84	6.89	4.76
			7.05	3.35
			7.25	2.30
6.73	3.29	7.05	3.22	
		7.85	3.22	
		8.97	3.22	

この場合 $k_{o(\text{EDTA, H, phen})}$ の値は EDTA 濃度に依存性を示さず、水素イオン濃度に対して原点を通る 1 次の比例関係を示した。又、1, 10-フェナントロリン濃度に対しては Fig. 66 に示すように y 軸切片をもつ 1 次の比例関係が得られた。

これらの結果から $k_{o(\text{EDTA, H, phen})}$ は次式 (40) で表される。

$$k_{o(\text{EDTA, H, phen})} = (k_1 + k_2 [\text{phen}]) [\text{H}] \quad \dots (40)$$

この実験条件では $(\text{Cu phen})_2 \text{XO}$ 混合配位子錯体が完全に生成せず一部分 $(\text{Cu}_2 \text{phen}) \text{XO}$ として存在していると考えられる。すなわち、式 (40) の第 2 項は次式 (41) に帰因するものである。



この場合の置換反応の機構も先に述べた 1, 10-フェナントロリンによる置換反応機構と同様である。

6.3.3 考察

先に述べたように EDTA による $\text{Cu}_2 \text{XO}$ の置換反応速度式は (42) 式で表される。

$$-\frac{d[\text{Cu}_2 \text{xo}]}{dt} = k[\text{Cu}_2 \text{xo}][\text{edta}] \quad \dots (42)$$

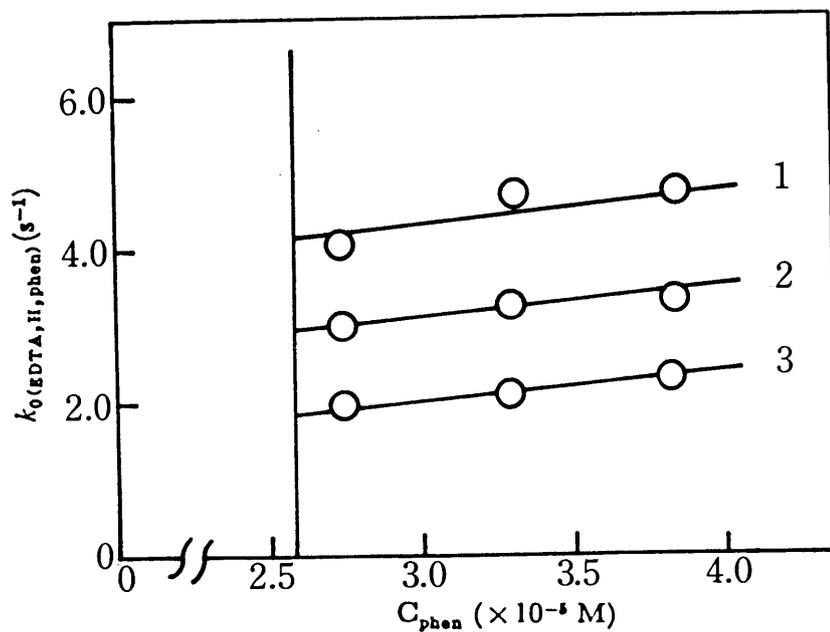
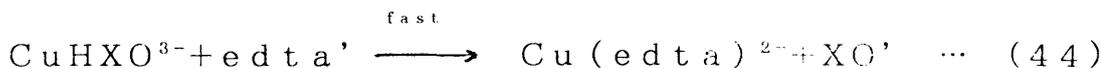
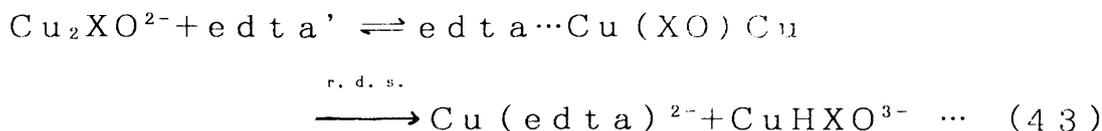


Fig. 66 Plots of $k_0(\text{EDTA, H, phen})$ vs. C_{phen} .
 $C_{\text{XO}} = 1.32 \times 10^{-5} \text{ M}$, $C_{\text{Cu}} = 2.58 \times 10^{-5} \text{ M}$,
 $C_{\text{EDTA}} = 5.61 \times 10^{-4} \text{ M}$, pH: (1) 6.89; (2) 7.05; (3) 7.25.

その置換反応の機構は



すなわち、 Cu_2XO 錯体の一方のCuにEDTAが配位し、中間体 $\text{edta} \cdots \text{Cu}(\text{XO})\text{Cu}$ から1個の銅(II)がはずれる反応が律速段階であると考えられる。一方、生成したCuHXOはEDTAによりすみやかな置換が行なわれる。1, 10-フェナントロリンが存在する場合は Cu_2XO は1, 10-フェナントロリンと混合配位子錯体を生成し、銅(II)-PAN-phen混合配位子錯体^{10) 12)}の場合と同様に歪んだ八面体構造をとるものと考えられる。従って、イミノ二酢酸基の窒素原子一つを水素イオンが攻撃することにより $(\text{Cuphen})_2\text{XO}$ 錯体から最初一つの銅が脱離する反応が律速段階であると考えられる。(Fig. 67)

XOを指示薬として銅(II)をEDTAで実際に滴定する場合XOの変色速度は1, 10-フェナントロリンの濃度及びpHに依存する。1, 10-フェナントロリンが存在しない場合及び種々の濃度の1, 10-フェナントロリンが存在する場合のpH 6.1におけるXOの変色速度をストップドフロー法で測定した。

銅(II) ($1.03 \times 10^{-3}\text{M}$)、XO ($1.22 \times 10^{-5}\text{M}$)及び1, 10-フェナントロリン ($0 \sim 2.4 \times 10^{-5}\text{M}$)を含む溶液と銅に対して1%過剰のEDTAを含む溶液 ($1.04 \times 10^{-5}\text{M}$)とを混合し、90%変色するのに要する時間を測定した。

(Table 29)

Table 29 Effect of 1,10-phenanthroline on the rate of color change

	Concentration of 1,10-phenanthroline (M)				
	0	2.7×10^{-6}	6.2×10^{-6}	1.2×10^{-5}	2.4×10^{-5}
Time for 90% color change (s)	63	3.3	1.6	1.2	0.7

XO = $1.22 \times 10^{-5}\text{M}$, Cu = $1.03 \times 10^{-3}\text{M}$, EDTA = $1.04 \times 10^{-5}\text{M}$, pH 6.1 (MES buffer), $\lambda = 580\text{nm}$, $\mu = 0.1$, 25 °C.

2. $7 \times 10^{-6}\text{M}$ の1, 10-フェナントロリンが存在するだけでフェナントロリンが存

在しないときの変色速度の20倍の速さになる又、 $1.2 \times 10^{-5} \text{M}$ 存在すれば50倍になる。従って、室温でXOを指示薬として銅(II)をEDTAで滴定する場合、加える1,10-フェナントロリンの濃度は $2.5 \times 10^{-6} \text{M} \sim 10^{-5} \text{M}$ で十分である。

1,10-フェナントロリンをあまり過剰に添加するとEDTAの滴定値に負の誤差を与えることになる。

第6章 文献

- 1) R. Pribil, *Talanta*, 3(1959)91
- 2) K. Studlar, I. Janousek, *Talanta*, 8(1961)203
- 3) E. J. Lancmyhr, P. E. Pauss, *Acta Chem. Scand.* 20(1966)2456
- 4) M. Yamada, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 49(1976)2456
- 5) M. Murakami, T. Yoshino, S. Harasawa, *Talanta*, 14(1967)1293
- 6) M. Otomo, *Japan Anal.*, 21(1972)436
- 7) G. Nakagawa, H. Wada, T. Hayakawa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 48(1975)424
- 8) G. Nakagawa, H. Wada, *Talanta*, 20(1973)829
- 9) H. Wada, T. Ishizuki and G. Nakagawa, *Talanta*, 23(1976)669
- 10) G. Nakagawa, H. Wada, *Talanta*, 22(1975)563
- 11) H. Wada, T. Ishizuki, G. Nakagawa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 50(1977)2104
- 12) H. Wada, M. Shiro, A. Yuchi, G. Nakagawa, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 61(1988)3869

第7章 結 言

現代の分析化学は分析機器の発展に伴い、無機陽イオン、無機陰イオンのみならず有機化合物の分野までの広範囲にわたり ppm から ppb レベルの分析が常時要求される。従って、より高感度で、より選択性に優れた分析試薬の開発が今後益々重要になってくるものと考えられる。

著者はこれまで主として水溶性高感度、高選択性試薬として 2-(2-チアゾリルアゾ)安息香酸誘導体およびその類縁化合物を合成し、それら試薬の分析化学的特性およびそれら試薬の分析化学への応用について研究してきた。ヘテロ環アゾベンゼン誘導体のアゾ基のパラ位にあるアミノ基の水素をスルホアルキル基で置換すると試薬が水溶性になると同時に試薬の感度も高まった。また、アゾ基のオルト位に -COOH を導入することにより、数種類の金属イオン {Cu(II)、Ni(II)、Co(II)、Co(III)、Fe(II)、Pd(II)} とのみ反応する選択性に優れた試薬とすることができた。

TAMSMB はコバルトの比色試薬として以前の比色試薬と比べて次の点で優れている。

- (1) 試薬の合成と精製が簡単であり、また安定である。
- (2) TAMSMB と Co(III)-TAMSMB 錯体が水溶性である。
- (3) Co(III)-TAMSMB 錯体の吸収極大である 655 nm でのコバルト(III)錯体のモル吸光係数が $1.13 \times 10^5 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ であり、またその波長での試薬ブランクは無視できるほど小さい。
- (4) 最適 pH 範囲が 4.5 ~ 6 で pH の調節が容易である。
- (5) TAMSMB は上で述べた数種類の金属イオンとのみ反応するが、コバルト(III)-TAMSMB 錯体を分解せずに、EDTA を用いて銅(II)-およびニッケル(II)-錯体を分解することができる。

また、TAMSMB はニッケルの EDTA を用いるキレート滴定の指示薬としても優れており、40°C の加熱で鋭敏な変色を示した。

TAMSMB および TAMSMB は水溶性で、なおかつ高感度であるという利点を生かしたフローインジェクション分析法に応用され、微量銅の定量法として優れている。

カルシウムと反応する 8-キノリノール(オキシシン)の 2 位にアゾ基を導入した化合物

HQANは四座配位子としてカルシウムとキレートを形成し、マグネシウムの妨害なしに飲料水中のカルシウムを定量することができた。

アセチルアセトンとアンチピリンとのアゾ化合物は合成の条件により二種類の異なったアゾ化合物が生成し、その化合物の構造を明らかにできた。

今後はこれまでの研究を基礎として配位基の違いによる感度、選択性の向上または置換基の導入による感度の変化などについて研究を続け、試薬の設計段階でこれまでの経験則ではなく理論的にこれらの要素を組み込めるようにしたい。

第8章 謝 辞

本研究を実施するにあたりご指導を賜りました元名古屋工業大学教授小玉数信先生及び単結晶X線結晶解析をお願いした塩義製薬株式会社城始勇博士に対して深く感謝の意を表す。また、実験の遂行にあたって実験器具及び試薬等の準備をして下さった名古屋工業大学文部技官小澤忠夫氏に感謝する。

著者発表の研究論文

本論文中における所在

1. 石附朋典, 和田弘子, 中川元吉, 「ニッケルの指示薬としての2-(2-チアゾリルアゾ)安息香酸誘導体」
分析化学, 1979, Vol. 28, 535-540
第2章, 第3章
2. H. Wada, T. Ishizuki, G. Nakagawa, 「2-(2-Thiazolylazo)-4-methyl-5-(sulfomethylamino)benzoic Acid as a Reagent for the Spectrophotometric Determination of Cobalt」
Analytica Chimica Acta, 1982, Vol. 135, 333-341
第2章 第3章
3. H. Wada, T. Ishizuki, G. Nakagawa, 「2-(2-Thiazolylazo)-4-methyl-5-(sulfomethylamino)benzoic Acid as Metallochromic Indicator for Nickel」
Bunseki Kagaku, 1983, Vol. 32, E225-230
第2章 第3章
4. H. Wada, T. Ishizuki, K. Kodama, G. Nakagawa, 「Spectrophotometric Determination of Cobalt in Steel with 2-(2-Thiazolylazo)-4-methyl-5-(sulfomethylamino)benzoic Acid(TAMSMB)」
Mikrochimica Acta, 1983II, 139-149
第2章 第3章
5. H. Wada, T. Ishizuki, G. Nakagawa, 「Synthesis of 2-(2-Thiazolylazo)-4-methyl-5-(sulfopropylamino)benzoic Acid and the Application to the Flow-Injection Analysis of Copper(II)」
Mikrochimica Acta, 1983III, 235-244
第2章 第3章

6. T. Ishizuki, H. Wada, K. Kodama, G. Nakagawa, 「Synthesis of 2-[2-(8-Hydroxyquinoly)azo]-1-naphthol and its Use in the Spectrophotometric Determination of Calcium in Potable Water」 *Analytica Chimica Acta*, 1985, Vol.176, 63-70 第2章 第4章
7. T. Ishizuki, H. Wada, G. Nakagawa, 「Synthesis of Some Anti-pyrinylazo and Thiazolylazo Compounds with Pentan-2,4-dione and their Reactions with Metal Ions」 *Analytica Chimica Acta*, 1988, Vol.212, 253-260 第2章 第5章
8. H. Wada, Y. Sawa, M. Morimoto, T. Ishizuki, G. Nakagawa, 「Effects of Manifold Components on the Peak Profiles in Flow-Injection Analysis」 *Analytica Chimica Acta*, 1989, in press 第3章
9. H. Wada, T. Ishizuki, G. Nakagawa, 「Effects of Auxiliary Complex-Forming Agents on the Rate of Metallochromic Indicator Color Change-IV Mechanisim of the Color Change of Xylenol Orange in Copper(II)-EDTA Titrations」 *Talanta*, 1976, Vol. 23, 669-671 第6章
10. H. Wada, T. Ishizuki, G. Nakagawa, 「The Effects of 1,10-Phenanthroline on the Rate of Xylenol Orange Indicator Color Change」 *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 1977, Vol.50, 2104-2107 第6章