

## FIA法による銅(II)の接触分析法とポリピリジン類の活性化作用

佐藤敬一\*、岩村直美、手嶋紀雄、中野恵文<sup>1</sup>、河島拓治

筑波大学化学系：305 茨城県つくば市天王台1-1-1

<sup>1</sup>鳥取大学教育学部：680 鳥取県鳥取市湖山町南4-101

## Catalytic flow injection analysis of copper(II) and the activation effects of polypyridines

Keiichi SATOH, Naomi IWAMURA, Norio TESHIMA, Shigenori NAKANO<sup>1</sup>  
and Takuji KAWASHIMA

Department of Chemistry, University of Tsukuba, Tsukuba, 305

<sup>1</sup>Faculty of Education, Tottori University, Tottori, 680

Catalytic flow injection analysis of copper(II) and the effect of polypyridines as activators on the catalysis of copper(II) were investigated spectrophotometrically. Copper(II) ion catalyzes the coupling reaction of 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone(MBTH) with *N,N*-dimethylaniline(DMA) to form an intense colored dye ( $\lambda_{\max} = 590 \text{ nm}$ ) in the presence of hydrogen peroxide. The reproducibility of the method is satisfactory with the relative standard deviation of 2.1 % for ten determinations of 4 ng of copper(II) per ml. The activation effect of 2,2'-bipyridine(bpy) and 1,10-phenanthroline(phen) is attributable to the formation of active complexes with copper(I, II). On the other hand, pyridine(py) and 2,9-dimethyl-1,10-phenanthroline( $\text{Me}_2\text{-phen}$ ) have small activation effect. 2,2':6',2''-Terpyridine(terpy) acted as inhibitor rather than activator, being formed stable complex with copper(II).

---

\*現在、分子科学研究所：444 愛知県岡崎市明大寺町西郷中38

## 1 緒言

3-メチル-2-ベンゾチアゾリノンヒドラゾン(MBTH)は過酸化水素などの適当な酸化剤の存在下で*N,N*-ジメチルアニリン(DMA)と酸化カップリングし、590nmに吸収極大を持つ青紫色の色素を生成する<sup>1)</sup>。通常はこの色素生成反応速度は遅いが、銅(II)イオンや鉄(II, III)イオンなどの存在で加速される。このような金属イオンの接触作用を利用した銅(II)<sup>2)</sup>、マンガン(II)<sup>3)</sup>、クロム(III)<sup>4)</sup>のバッチ法による接触分析法は既に報告した。接触分析法では反応にあずかる物質の濃度だけではなく、反応温度、反応pH、反応時間などが感度、再現性に大きく影響するため、定量分析にはこれらの条件を厳密に一定に保つ必要がある。しかしながらフローインジェクション分析法(FIA法)は実験条件の再現性に優れ、かつ反応が完結する必要もなく、接触分析法を適用するのに極めて優れた方法といえる<sup>5),6)</sup>。また接触分析法において適当な物質を共存させると、それ自身には接触作用がないにもかかわらず、金属イオンの接触作用が増大することがある。このような作用を持つ物質は活性化剤と呼ばれる<sup>7-9)</sup>。適切な活性化剤を使用することにより、接触分析法の感度を数倍から数十倍以上に向上させることができる。しかしながらこれまでの活性化剤の選択は経験によるところが多く、選択の基準やその作用に関しても平衡論的な、あるいは速度論的見地から明らかにされた例は少ない。これまでに銅(II)イオンの接触作用に対する活性化剤として、ピリジン、ビピリジン、アンモニア等が知られている<sup>2,7)</sup>。本研究では、種々の系で銅(II)イオンの接触作用に対して活性化作用があると考えられるポリピリジン類(2,2'-ビピリジン(bpy)、1,10-フェナントロリン(phen)、2,2':6',2''-ターピリジン(terpy)、2,9-ジメチル-1,10-フェナントロリン(Me<sub>2</sub>-phen)、ピリジン(py))を選び、その作用と生成する銅錯体の安定度との関係について検討し、その結果を基にFIA法による銅(II)の接触分析法を開発した。

## 2 実験

### 2-1 試薬

MBTH (3-Methyl-2-benzothiazolinone hydrazone) : 東京化成製1水和物1塩酸塩をそのまま使用した。窒素ガスを飽和させた水に溶かして使用した。0.01 mol dm<sup>-3</sup>溶液を調製し、使用の都度DMAと混合した。

DMA (*N,N*-Dimethylaniline) : 和光純薬製特級品を減圧蒸留後用いた。使用の都度MBTH溶液と混合した。

過酸化水素 : 三菱瓦斯化学製特級過酸化水素(30wt%)を過マンガン酸滴定により定量後、希釈して0.5 mol dm<sup>-3</sup>になるようにbpyと混合して用いた。

塩酸 : 和光純薬製精密分析用試薬を希釈して0.1 mol dm<sup>-3</sup>とした。

MOPS (3-(*N*-Morpholino)propanesulfonic acid) : ドータイト製試薬をそのまま使用し、0.1 mol dm<sup>-3</sup>溶液とした。

その他の試薬は和光純薬製特級品をそのまま用いた。溶液の調製には、ミリポア社製Milli-Q Laboにより精製した超純水を用いた。

### 2-2 装置

ポンプ : サヌキ工業製DM2M-1024ダブルプランジャーポンプを使用した。

分光光度計 : フローセル(光路長10mm、内容量8 μl)付き相馬光学製S-3250分光光度計を用いた。

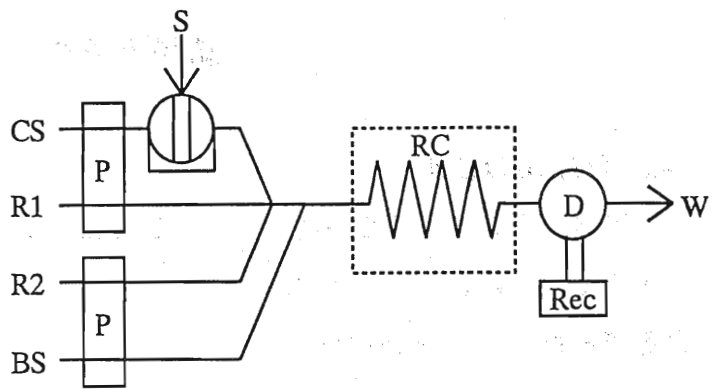
サンプルインジェクター : サヌキ工業製SVM-6M2型を使用した。

各部品は、内径1mmのテフロンチューブとテフロン製コネクターにより接続した。

### 2-3 実験方法

本研究に使用したFIAのフローシステムをFig. 1に、最終的に得られたFIA条件をTable 1に示す。ダブルプランジャー型ポンプPにより、CSからキャリアである0.1 mol dm<sup>-3</sup>塩酸を、R1より窒素ガスで脱酸素したMBTHとDMAの混合溶液を、R2より過酸化水素とbpyの混合溶液を、BSよりMOPSとpH調整用のNaOH

の混合溶液を、それぞれ流速  $0.5 \text{ ml min}^{-1}$  で送液した。  $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  塩酸性にした銅(II)試料溶液 ( $141 \mu\text{l}$ ) を、サンプルインジェクターよりキャリア中に注入した。これは各試薬溶液と混合され、恒温槽中に設置された反応コイル RC 中で発色反応が進行する。反応生成物の  $590\text{nm}$  における吸光度を連続的に記録し、予め作成した検量線より銅濃度を求めた。



**Fig. 1** Schematic diagram of flow injection system. P: double plunger pump (DM2M-1024, Sanuki); D: spectrophotometer (S-3250, Soma); S: sample injector ( $141 \mu\text{l}$ ); RC: PTFE reaction coil (1 mm i.d., 5 m) in a thermostated bath; CS: carrier solution ( $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$  HCl); R1: mixture of MBTH and DMA; R2: mixture of  $\text{H}_2\text{O}_2$  and bpy; BS: mixture of MOPS and NaOH; W: waste

Table 1. FIA conditions for the determination of copper.

Flow rate:	$0.5 \text{ ml min}^{-1}$ (each solution)
MBTH:	$3.0 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$
DMA:	$8.0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$
$\text{H}_2\text{O}_2$ :	$0.5 \text{ mol dm}^{-3}$
Bpy:	$4.0 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$
pH:	7.2 - 7.4
Temperature:	$50 \text{ }^\circ\text{C}$
Sample injection:	$141 \mu\text{l}$ ( $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$ HCl)
Carrier	$0.1 \text{ mol dm}^{-3}$ HCl
Detection:	$590 \text{ nm}$

### 3-1 反応pHの影響

検出器からの流出液のpHを

測定することにより、反応pH

の影響を調べた。その結果を

Fig. 2に示す。反応は中性付近

で最大となり、特にpH7.2から

7.4が最大の吸光度を与えた。

このとき用いる緩衝液の種類

について検討したところ、リ

ソ酸塩緩衝液、トリアス緩衝液

では銅(II)イオンの接触作用は

阻害され、吸光度は1/2以下に

低下した。このようなリソ酸

塩緩衝液などによる銅(II)イオ

ンの接触作用の阻害は、他の反応系でも報告されている<sup>10,11</sup>。しかしMOPS緩衝

液では吸光度の低下はほとんど見られなかったため、MOPS緩衝液を用い反応pH

を7.2から7.4とした。

3-2 MBTH, DMA濃度の影響

反応試薬であるMBTHとDMA濃度について検討した。MBTH濃度を変化させた

とき、吸光度はMBTH濃度の増加に伴い初めは直線的に急激に増大するが、

MBTH濃度が $2 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup>以上ではほぼ一定となった。この結果よりMBTH

濃度は $3.0 \times 10^{-4}$  mol dm<sup>-3</sup>とした。DMA濃度を変化させたときの結果をFig. 3に

示す。DMA濃度を増加させると吸光度は増加するが、DMA濃度が約 $8 \times 10^{-3}$  mol

dm<sup>-3</sup>以上では吸光度はほぼ一定となった。しかしながらこれ以上の濃度では

DMAが遊離し、再現性が低下したのでDMA濃度は $8 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup>とした。

## 3 結果と考察

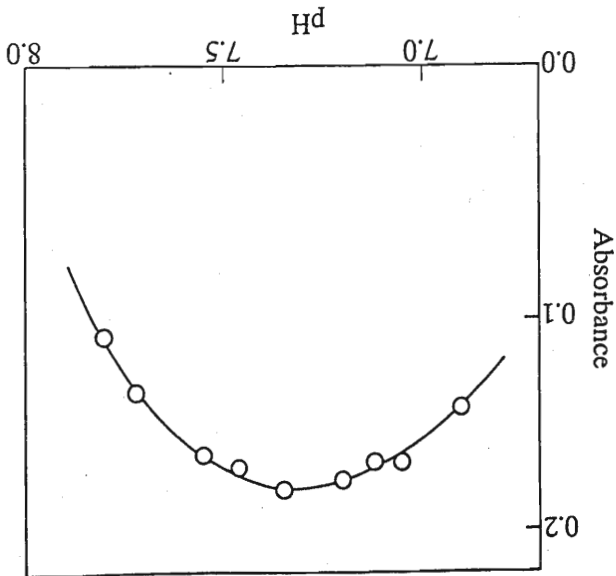


Fig. 2 Effect of reaction pH on the coloring reaction.

本法に用いた反応系では添加する試薬の種類が多いので、FIA法で必要となる流路数を減らすため上述の濃度のDMAとMBTHをリーザーバー中で混合し、着色の様子を見た。その結果、空気を飽和させた混合溶液でも2時間程度は安定であったが、それ以後は徐々に着色するのが認められた。一方、混合溶液に窒素ガスを飽和させ脱酸素した場合は、24時間以上着色が見られなかった。このことから窒素ガスを飽和させたMBTHとDMAの混合溶液を送液することにした。

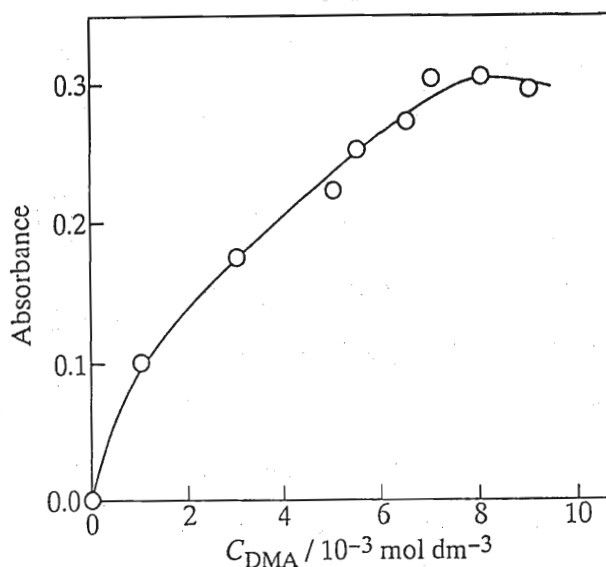


Fig. 3 Effect of DMA concentration on the coloring reaction.

### 3-3 過酸化水素濃度の影響

酸化剤である過酸化水素濃度を増加させると、吸光度はゆるやかに増加したが、 $0.4 \text{ mol dm}^{-3}$ 以上ではほぼ一定となったので、過酸化水素濃度は $0.5 \text{ mol dm}^{-3}$ とした。

### 3-4 反応温度の影響

反応コイルRCを浸した恒温槽の温度を変化させて、反応温度の影響を調べた。温度の上昇に伴い吸光度も増加したが、 $60^\circ\text{C}$ 以上では再現性が低下したので、操作の簡便性も考慮して反応温度は $50^\circ\text{C}$ とした。

### 3-5 活性化剤の検討

接触反応において適切な活性化剤は触媒作用を増大させ、分析法としての感度を向上させる。そのため適当な活性化剤の選択は極めて重要な項目である。本研究ではピリジンを含む種々のポリピリジンを共存させ、その活性化剤としての効

果について検討した。各種ポリピリジン存在下での吸光度を、それらが存在しないときの吸光度に対する相対値で表した結果をFig. 4および5に示す。

活性化剤としてbpyあるいはphenを共存させた場合、濃度の増加とともに吸光度は急激に増加し、bpy濃度 $4 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ またはphen濃度 $5 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ のとき吸光度はそれらが存在しないときの約30倍となり、これらが活性化剤として有効であることが示された。しかしより高い濃度では吸光度はむしろ低下した。また、Fig. 5に見られるように活性化剤としてpyを共存させた場合、濃度の増加とともに吸光度はゆるやかに増加したが、py濃度 $0.1 \text{ mol dm}^{-3}$ のときの吸光度は共存しないときの2.8倍程度であり、その効果は小さかった。Me<sub>2</sub>-phenを共存させると、濃度の増加に伴い吸光度はいったん増加するが、 $1 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ 以上ではその効果は逆転し、Me<sub>2</sub>-phen濃度が $1 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ 以上では銅の触媒作用による発色反応は全く進行しなくなった。またterpyでは $1 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ 以上共存すると、吸光度の増加は全く認められず銅(II)の接触作用は全く失われた。以上の結果よ

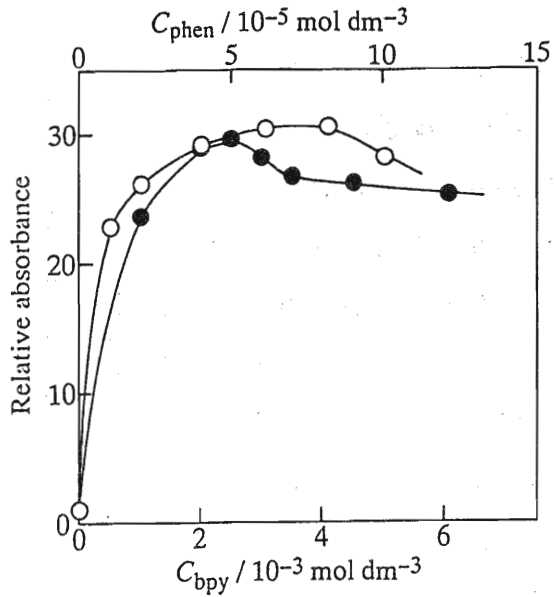


Fig. 4 Effect of bpy(○) and phen(●) concentration on the coloring reaction as an activator.

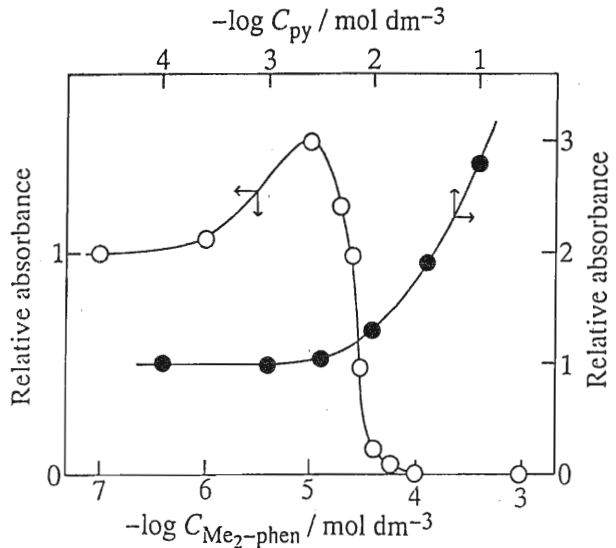


Fig. 5 Effect of Me<sub>2</sub>-phen(○) and py(●) concentration on the coloring reaction.

り活性化剤としての効果はphen~bpy>>Me<sub>2</sub>-py>pyであり、bpyは活性化作用の濃度依存性が小さいので、活性化剤としてbpy濃度4.0×10<sup>-3</sup> mol dm<sup>-3</sup>を選んだ。

活性化剤の作用機構については明らかではないが、金属イオンと錯形成することにより金属の有効電荷を増大させ、その効果が基質分子内の結合切断などを容易にするか、あるいは系の電位変化によって触媒の再生反応が容易になるなどの考えがある<sup>6-9</sup>)。ここではこれらポリピリジン類と銅(I)および銅(II)との錯形成の安定度<sup>12,13</sup>)から活性化効果を示す配位子について考察した。ピリジンは銅イオンに対し4分子まで付加した錯体を形成するが、その安定度定数はlog β<sub>4</sub> = 6.5(Cu(I)), 8.5(Cu(II))とかなり小さく、ピリジン錯体が効果的に働くほどには生成していないものと考えられる。一方、bpyやphenの活性化効果は極めて大きい。濃度ではbpyの方がphenよりも約2桁高い。これはbpyのlog β<sub>2</sub> = 13.2(Cu(I)), 14.2(Cu(II))およびphenのlog β<sub>2</sub> = 15.8(Cu(I)), 15.9(Cu(II))から考えて、bpy錯体の安定度がphen錯体のそれよりも小さいことが原因と考えられる。すなわち、逆にいえば安定度の大きなphenの方が安定度の小さいbpyよりも低濃度で活性化効果が現れたものと考えられる。またbpyおよびphenのいずれにおいても銅(II)と銅(I)の安定度定数は同程度であることから、これらの配位子は銅(II)と銅(I)の両者と錯形成し、そのいずれもが大きな接触作用、すなわち配位子にとっては活性化作用を示すものと考えられる。一方terpyの安定度定数はlog β<sub>1</sub> = 9.3(Cu(I)), 13.0(Cu(II))で銅(II)と安定な錯体を形成する。またMe<sub>2</sub>-phenの安定度定数はlog β<sub>1</sub> = 11.7(Cu(I)), 6.1(Cu(II))で銅(I)と安定な錯体を形成し、かつ銅(II)とはビス錯体はほとんど形成しない。これらは極めて安定な錯体を形成するが、どちらかといえばマスクされてしまい銅イオン本来の接触作用までが失われてしまったと思われる。MBTHとDMAの酸化カップリング反応における、あるいはまた反応生成物の酸化還元反応における接触作用は、金属イオンが種々の酸化状態をとりながら進行すると考えられる。すなわち本系においては、銅(II)と銅(I)の両方の酸化状態がサイクルすることにより触媒として働く。このように考えると、どちらか一方の酸化状態が錯形成によって安定化されると系の電位が大きく変化し<sup>14,15</sup>)、触媒の再生は容易になるはずである。例えば銅(I)が安定な錯体を形成すると系の



電位が上昇し、銅(II)への酸化が容易になると考えられるが、あまりにも銅(I)錯体の安定度が大きすぎるとかえって再生反応が起き難くなる。またterpyについても同様である。本反応系では先に述べたようにbpyとphenでは、銅(II)と銅(I)の両方の酸化状態のものと同程度に錯形成していることから、その作用は錯形成することにより電子の授受が容易になり反応速度が著しく増大するものと考えられる。いずれにしても活性化剤としての作用を示す配位子は金属イオンと錯形成するものであっても、あまりに安定な錯体を形成するか反対に不安定な錯体を形成する配位子などではなく、本研究における銅イオンとbpyやphenとの錯形成程度の安定度の配位子が効果を示すものと考えられる。

### 3-6 共存物質の影響

以上の条件における50 ng ml<sup>-1</sup>の銅の定量に及ぼす共存イオンの影響を調べた。銅(II)の単独の吸光度に対し、±5%以上の変化を与えたものを妨害とみなした結果をTable 2に示す。コバルト(II)が等濃度で、鉄(III)が1/5の濃度で5%の正の妨害を与えた。

Table 2. Effect of diverse ions.

Ion or salt added	Tolerance limit* / ng ml <sup>-1</sup>
Na(I), K(I), Ba(II), Se(IV), Mo(VI)	
Cl <sup>-</sup> , F <sup>-</sup> , NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> , NaHCO <sub>3</sub> , CH <sub>3</sub> COONa	100000
Mg(II), Ca(II), V(V), As(V)	50000
Al(III), Ni(II), Sn(II), Sb(III), Bi(III), citrate	10000
Ti(IV), Pb(II)	1000
Cr(III), Mn(II), Zn(II), Cd(II)	100
Co(II)	50
Fe(III)	10

\*Errors within ±5 % are considered to be tolerable.

以上の検討の結果、最終的に得られたFIA条件において、検出限界( $S/N = 3$ )は  $0.05 \text{ ng ml}^{-1}$ である。 $4 \text{ ng ml}^{-1}$ の銅を10回繰り返し測定したときの標準偏差は2.1%であった。

## 文 献

- 1) E. Sawicki, T. W. Stanley, T. R. Hauser, W. Elbert and J. L. Noe, *Anal. Chem.*, **33**, 722, (1961).
- 2) S. Nakano, H. Ihara, M. Tanaka and T. Kawashima, *Mikrochim. Acta*, **1985I**, 455.
- 3) S. Nakano, A. Ohta and T. Kawashima, *Mikrochim. Acta*, **1985II**, 273.
- 4) S. Nakano, S. Hinokuma and T. Kawashima, *Chem. Lett.*, 357(1983).
- 5) J. Ruzicka and E. H. Hansen, "Flow Injection Analysis", Wiley, New York, 2nd ed. (1988).
- 6) D. Perez-Bendito and M. Silva, "Kinetic Methods in Analytical Chemistry", Ellis Horwood, Chichester (1988).
- 7) T. Kawashima and S. Nakano, *Anal. Chim. Acta*, **261**, 167 (1992).
- 8) P. R. Bontchev, *Talanta*, **19**, 675 (1972).
- 9) H. A. Mottola, "Kinetic Aspects of Analytical Chemistry", Wiley, New York (1988).
- 10) S. Nakano, M. Sakai, M. Tanaka and T. Kawashima, *Chem. Lett.*, 473 (1979).
- 11) S. Nakano, M. Hayashi and T. Kawashima, *Anal. Sci.*, in press.
- 12) W. A. E. McBryde, "A Critical Review of Equilibrium data for Proton- and Metal Complexes of 1,10-Phenanthroline, 2,2'-Bipyridyl and Related Compounds", Pergamon, Oxford (1978).
- 13) R. M. Smith and A. E. Martell, "Critical Stability Constants", Plenum Press, New York (1975).
- 14) H. Itabashi, K. Umetsu, K. Satoh and T. Kawashima, *Anal. Sci.*, **6**, 721 (1990).
- 15) K. Umetsu, H. Itabashi, K. Satoh and T. Kawashima, *Anal. Sci.*, **7**, 115 (1991).

(1993年10月13日 受理)