

FLUORESZENZ VON METALLKOMPLEXEN DES SALICYLIDEN-*o*-HYDROXYBENZYLAMINS

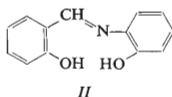
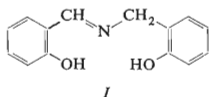
Z. HOLZBECHER und P. HOLLER

*Institut für analytische Chemie,
Technische Hochschule für Chemie, Prag 6*

Eingegangen am 19. Juli 1971

Es wurden die Dissoziationskonstanten des Salicyliden-*o*-hydroxybenzylamins im ursprünglichen und angeregten Zustand ermittelt und der Einfluß verschiedener Lösungsmittel und des pH-Wertes der Lösungen auf die Fluoreszenzintensität der Komplexe des Reagens mit Be, Al, Zn, Ga, In und Sc wurde untersucht; von diesen Komplexen fluoresziert verhältnismäßig am intensivsten der Zinkkomplex. In den Lösungen des Beryllium- und Zinkkomplexes wurde das Molverhältnis des Metalls zum Reagens 1:1 und die scheinbare Stabilitätskonstante des Zinkkomplexes ermittelt. Es wurden die Eigenschaften der Salicyliden-*o*-hydroxybenzylamin- und Salicyliden-*o*-aminophenolkomplexe verglichen. Auch wurde ein Verfahren zum Fluoreszenztüpfelbeweis des Galliums (pD 5,2) und zur fluorometrischen Bestimmung des Zinks neben anderen Elementen mit einem Erfassungsbereich von 50 ng Zn ausgearbeitet.

Die vorliegende Arbeit knüpft an die früheren Untersuchungen der Fluoreszenzeigenschaften der vom Salicylaldehyd abgeleiteten Metallkomplexe der Schiff'schen Basen an¹. Salicyliden-*o*-hydroxybenzylamin (SHBA) (*I*)



ähnelt hinsichtlich seiner Struktur am meisten dem früher untersuchten Salicyliden-*o*-aminophenol (SAPH) (*II*), das zum empfindlichen Fluoreszenznachweis² und zur Aluminium³-, ggf. Galliumbestimmung⁴ diente; wir waren daher am Vergleich des Komplexbildungsvermögens beider Substanzen interessiert.

EXPERIMENTELLER TEIL

Reagentien und Apparate

Salicyliden-*o*-hydroxybenzylamin wurde durch Mischen von 2 g *o*-Hydroxybenzylamin⁶ in 20 ml 50%igem Äthanol mit 2 g Salicylaldehyd in 10 ml Äthanol und Erhitzen des Gemisches auf 60°C hergestellt⁵. Nach dem Erkalten schieden sich aus der Lösung gelbe Kristalle aus, die aus Äthanol

umkristallisiert und im Vakuum getrocknet wurden. Die Ausbeute betrug 88% d. Theorie. Die Zusammensetzung des Produktes wurde mittels Elementaranalyse kontrolliert. Für $C_{14}H_{13}NO_2$ (Mol. Gew. 227,2) berechnet: 74,00% C, 5,77% H, 6,16% N; gefunden 73,79% C, 5,84% H, 6,16% N. Der Schmelzpunkt wurde am Koflerblock bei 185–186°C ermittelt. Von Witkop und Beiler⁷, die das Reagens als Nebenprodukt bei der Untersuchung von Transaminationsreaktionen der Schiffschen Basen herstellten, wird ein Schmelzpunkt von 183–184,5°C angeführt. Die Herstellung von SAPH wurde bereits früher beschrieben². Die qualitativen Reaktionen wurden mit aus analysereinen Präparaten (Lachema, ggf. Merck) hergestellten 5%igen wäßrigen Metallsalzlösungen durchgeführt. Für die quantitativen Fluoreszenzuntersuchungen dienten ca. 0,1M Zn-, Be-, Ga-, Al- und Sc-Perchloratlösungen, deren Konzentration mittels komplexometrischer Titration kontrolliert wurde. Der pH-Wert der Lösungen wurde einerseits mit Hilfe von Britton-Robinsonschen Universal-, ggf. Phosphatpufferlösungen⁸ im pH-Bereich von 3,25–11,25, andererseits mittels ammoniakalischer, Acetat-, Monochloracetat- und Tris(hydroxymethyl)aminomethanpuffer eingestellt. Als Lösungsmittel diente destilliertes Wasser, 95%iges, rektifiziertes Äthanol, Dioxan und Isoamylalkohol p.a. Die Fluoreszenzreaktionen wurden unter der mit einem Woodschen Filter versehenen analytischen Quecksilberlampe „Theta-Sonne Typ 99“ beobachtet. Die Fluoreszenzintensität wurde mittels des Apparates „Spekol“ mit Fluorometeraufsatz (Zeiss, Jena) gemessen. Als Strahlungsquelle diente die Quecksilber-Hochdruckentladungsröhre HQE 40. Zur Fluoreszenzerregung wurde die Wellenlänge 365 nm herangezogen. Die Lösungen wurden in 1 cm-Glasküvetten gemessen und ihre Fluoreszenz wurde mit dem Blauglasfluoreszenzstandard verglichen. Die Absorptionsspektren der Lösungen wurden in 1 cm Quarzküvetten mit Hilfe von Zeiss-Spektrophotometern VSU-2 und des sowjetischen Apparates SF-4, die Fluoreszenzspektren mittels des mit fluorometrischem Aufsatz und Woodschem Filter versehenen Apparatur GF-4 (Optica, Milano) gemessen. Die Messung der pH-Werte der Lösungen wurde unter Zuhilfenahme des mit kombinierter Glas- und Kalomelektrode ausgerüsteten Kompensations-pH-Meters PHK-1 (Laboratorní přístroje, Prag) durchgeführt. Der Apparat wurde mit Standardpufferlösungen geeicht⁸. In den organische Lösungsmittel enthaltenden Lösungen werden die gemessenen Werte mit „pH**“ bezeichnet. Die potentiometrischen Titrationen wurden mit Hilfe des Registrierapparates „Potentiograph E 436“ (Metrohm, Herisau) vorgenommen.

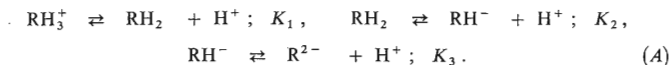
ERGEBNISSE

Eigenschaften des SHBA

Im Ultraviolettlicht fluoresziert das Reagens in fester Form gelbgrün. Seine Lösungen weisen in Äthanol, Dioxan, Wasser und Isoamylalkohol eine sehr schwach grüne Fluoreszenz auf, durch Basenzugabe erhöht sich jedoch die Fluoreszenzintensität erheblich.

Dissoziationskonstanten des SHBA

Das Reagens weist zwei saure (–OH) und eine basische Funktionsgruppe (=N–) auf; in den Lösungen können daher folgende Gleichgewichte vorausgesetzt werden:



Die Dissoziationskonstanten wurden aus der potentiometrischen Titrationskurve der 0,01M Reagenslösung in 50%igem Dioxan abgelesen: pK_1 4,5, pK_2 7,9, pK_3 8·7. Aus dem Diagramm, das die Abhängigkeit der Absorbanz der Reagenslösung vom pH*-Wert bei der entsprechenden Wellenlänge veranschaulicht, wurden die Werte pK_1 4,5 (30%iges Äthanol), ggf. pK_1 4,9 (50%iges Dioxan) abgelesen. Die pK_2 - und pK_3 -Werte konnte zufolge des ungünstigen Kurvenverlaufs nicht mit hinreichender Präzision ermittelt werden. Die Abhängigkeit der Fluoreszenzintensität des SHBA vom pH*-Wert in 50%igem Äthanol ist in Abb. 1 veranschaulicht. Aus ihrem Verlauf kann der annähernde pK_1 -Wert 4,5 abgelesen werden. Die Änderung der Fluoreszenzintensität bei höheren pH-Werten ist zu schleppend, so daß sie zum Ablesen der entsprechenden pK -Werte, die das Gleichgewicht zwischen den diesbezüglichen Teilchen im angeregten Zustand ausdrücken, nicht herangezogen werden kann^{9,10}.

Metallkomplexe des SHBA

Die Mehrzahl der wäßrigen Metallsalzlösungen gibt keine ausgeprägten Reaktionen mit der Reagenslösung in Äthanol. Blau bis blaugrün fluoreszierende Komplexe im Ultraviolettlicht werden im schwachsauren Medium lediglich von Be, Al, Ga, Sc und In, im basischen Medium von Zn gebildet. Die Absorptionsspektren des SHBA Aluminiumkomplexes sind zusammen mit den SAPH-Spektren in Abb. 2 angeführt. Die Absorptionsspektren der übrigen SHBA-Komplexe unterscheiden sich nur unwesentlich von dem Spektrum des Aluminiumkomplexes.

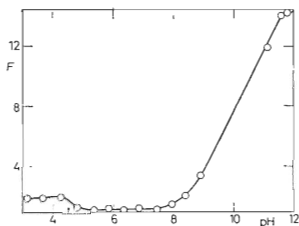


ABB. 1

Abhängigkeit der Fluoreszenzintensität der Salicyliden-*o*-hydroxybenzylaminlösung in 50%igem Äthanol vom pH*-Wert

10^{-4} M Reagens; 0,04M Phosphatpufferlösung, F relative Fluoreszenzintensität.

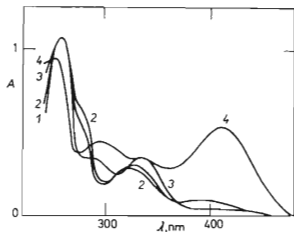


ABB. 2

Absorptionsspektren von SHBA, SAPH und ihrer Aluminiumkomplexe

10^{-4} M-SHBA oder SAPH; 0,04M Acetatpuffer pH 5, $I = 0,05$, ggf. $5 \cdot 10^{-4}$ M- $Al(ClO_4)_3$ in 50%igem Äthanol; 1 cm-Küvette. Kurve 1 SHBA, 2 SHBA-Al, 3 SAPH, 4 SAPH-Al.

Fluoreszenzintensität der SHBA-Metallkomplexe

Die Fluoreszenzintensität der Metallkomplexe ist vom pH-Wert, vom Gehalt an organischem Lösungsmittel im Gemisch und von der Abstehtdauer abhängig. Die optimalen Versuchsbedingungen für die einzelnen Komplexe sind in Tabelle I angeführt. Beim Zinkkomplex erreicht die Fluoreszenzintensität ihr Maximum 50 Minuten nach dem Mischen der Lösungen und 10 Minuten ändert sie sich nicht; bei den übrigen Komplexen sinkt sie nach Erreichen des Maximums schnell ab. Die Fluoreszenzintensität des Indiumkomplexes ist sehr geringfügig.

Zusammensetzung der Komplexe

Die Zusammensetzung der Komplexe wurde mittels der Jobschen spektrophotometrischen¹¹, ggf. mit Hilfe der fluorometrischen¹² Variationsmethode untersucht. Beim Zinkkomplex (50%iges Dioxan, ammoniakalischer Puffer pH 8,75, $c_0 = 6 \cdot 10^{-4} \text{M}$, 360 nm) und beim Berylliumkomplex (50%iges Äthanol, Acetatpuffer pH 5,0, $c_0 = 2 \cdot 10^{-4} \text{M}$, 360 nm) wurde in beiden Fällen das Molverhältnis Metall zum Reagens 1 : 1 festgestellt. Bei der Untersuchung des Aluminiumkomplexes

TABELLE I

Optimalbedingungen für die maximale Fluoreszenzintensität von Metallkomplexen des Salicyliden-*o*-hydroxybenzylamins

Lösungsmittel	Puffer	Metall	pH*-Bereich	Abstehtdauer min	Rel. Fluoreszenz- intensität ^a
20% Äthanol 10% Dioxan	Acetat- Acetat-	Al	4,8–5,1 5,0–5,1	10 5–10	24 18
30–60% Äthanol 60% Dioxan	Acetat- Acetat-	Be	5,1–5,2 4,7–4,8	20 10	9 11
20–50% Äthanol 20% Dioxan	Monochloracetat Monochloracetat	Ga	3,4–3,5 3,0–3,1	5 10	15 14
30% Äthanol 30% Dioxan	Monochloracetat Monochloracetat	Sc	3,6–3,8 4,0–4,1	30 10	2 2
60% Äthanol 50% Dioxan	ammoniak. ammoniak.	Zn	8,2–8,3 8,7–8,9	50–60 50–60	60 85

^a $5 \cdot 10^{-3}$ mmol Metall + $1,25 \cdot 10^{-2}$ mmol Reagens in 25 ml. Fluoreszenzintensität des blau fluoreszierenden Standards = 100%. Wellenlänge der erregenden Strahlung 365 nm.

wurden zu flache Kurven gewonnen, aus denen auf die Zusammensetzung des Komplexes nicht geschlossen werden konnte. Die scheinbare, aus den Jobschen Daten der spektrophotometrischen Variationsmethode¹¹ bei den angeführten Versuchsbedingungen berechnete Stabilitätskonstante des Zinkkomplexes wies den Wert von $\gamma_1 = 6,4 \cdot 10^4$ auf.

Galliumnachweis mittels SHBA

Es wurde ein Verfahren zum Papiertüpfelnachweis von Gallium ausgearbeitet. Auf Filtrierpapier wird ein Tropfen der zu untersuchenden schwachsauren Lösung, dann ein Tropfen $5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ Reagenslösung in Äthanol und schließlich ein Tropfen HClO_4 (1 : 10) getropft. In Gegenwart von Gallium fluoresziert der feuchte Fleck unter der Quecksilberlampe intensiv blau. Nach 3–5 Minuten verschwindet die Fluoreszenz. Unter diesen Bedingungen zeigen Zn, Al, Be, In und Sc keine Fluoreszenz. Die Erfassungsgrenze beträgt 70 ng/0,01 ml, d.i. pD 5,2. Der Nachweis wird im Molverhältnis 100 : 1 von Ag, Cd, Al, Be, Zn, Ca, Mg, Na und NH_4 (I) nicht gestört. Die Nachweisempfindlichkeit wird durch Ni, Co, Cu und U^{VI} vermindert; die Fluoreszenz wird von Cr (III) und Fe (III) bereits beim Molverhältnis 10 : 1 zum Erlöschen gebracht. Der Nachweis wird auch durch eine Reihe Anionen, beispielsweise von F^- , Tartraten, Zitraton und ÄDTE gestört.

Fluorometrische Zink-, Beryllium- und Aluminiumbestimmung

Die fluorometrische Bestimmung der angeführten Elemente wurde unter optimalen, in Tabelle I angeführten Versuchsbedingungen durchgeführt. Die Erfassungsgrenze x wurde in $5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$ Reagenslösungen aus dem Richtungskoeffizienten der entsprechenden, aus fünf Parallelmessungen konstruierten Eichkurve nach der Gleichung

$$x = 2s_0m/(F - F_0) \quad (1)$$

ermittelt, wo s_0 die beim Blindversuch festgestellte Standardabweichung des Mittelwertes der Fluoreszenzintensität, F die Fluoreszenzintensität der m ng Metall ($m \approx 5x$) enthaltenden Probe und F_0 die Fluoreszenzintensität des Blindversuchs bezeichnen. Die Ergebnisse wurden statistisch verarbeitet und die abseitsliegenden Ergebnisse durch das Kriterium Q eliminiert¹³. Es wurden folgende Werte ermittelt:

Metall	Puffer	pH	Lösungsmittel	Erfassungsgrenze, ng
Al	Acetat-	5,00	30% Äthanol	60
Be	Acetat-	5,00	30% Äthanol	25
Zn	ammoniakalischer	8,75	50% Dioxan	50

Beim Gallium und Scandium wurde die Erfassungsgrenze nicht bestimmt, da sich die Fluoreszenzintensität dieser Komplexe schnell mit der Zeit ändert. Die durch die relative Standardabweichung ausgedrückte Bestimmungsgenauigkeit von 0,6–6 μg Zn beträgt ungefähr 1%. Der

Einfluß der Fremdionen auf die Zinkbestimmung in $2 \cdot 10^{-4} \text{M}$ $\text{Zn}(\text{ClO}_4)_2^-$ und $5 \cdot 10^{-4} \text{M}$ -Reagenslösungen in 50%igem Dioxan bei Gegenwart eines ammoniakalischen Puffers vom pH-Wert 8,75 ist in Abb. 3 veranschaulicht. Die Fluoreszenzintensität ändert sich in Gegenwart eines bis tausendfachen Natriumolüberschusses, ggf. hundertfachen Cadmium- oder Magnesiumüberschusses gegenüber Zink nicht. Die Fluoreszenz wird am meisten von Kobalt und Kupfer zum Erlöschen gebracht. In der Lösung dürfen keine Ionen zugegen sein, die beim gegebenen pH-Wert durch Ammoniak gefällt werden. Durch laufend bei der Maskierung verwendete Reagentien (F^- , Tartrate, Zitate, Thiosulfate und ÄDTE) wird die Fluoreszenzintensität verringert.

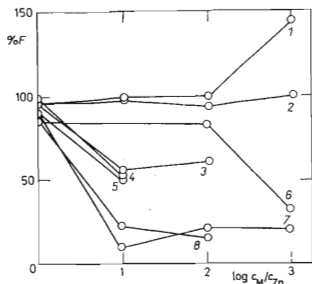


ABB. 3

Einfluß von Fremdionen auf die Fluoreszenz des Zinkkomplexes mit SHBA

$c_{Zn} 2 \cdot 10^{-4} \text{M}$, $c_{SHBA} 5 \cdot 10^{-4} \text{M}$,
50%iges Dioxan, 0,04M ammoniakalischer
Puffer; I 0,05. pH* 8,75. F Relative
Fluoreszenzintensität des Zinkkomplexes.
Kurven: 1 Mg, 2 Na, 3 Be, 4 Al, 5 Ga,
6 Cd, 7 Co, 8 Cu.

DISKUSSION

Die Reagentien *I* und *II* können mit Metallionen Komplexe bilden, die beim Reagens *I* sechsgliedrige, kondensierte Ringe vorstellen, während beim Reagens *II* einer der gebildeten Ringe fünfgliedrig ist. Die Basizität des Stickstoffs ist bei beiden Reagentien annähernd die gleiche¹⁴. Die Fluoreszenzfärbung der mit dem Reagens *I* gebildeten Komplexe ist blau bis blaugrün, die Färbung der mit dem Reagens *II* gebildeten gelbgrün bis gelb. Der Aluminiumkomplex des Reagens *II* fluoresziert intensiver als beim Reagens *I* und seine Fluoreszenz ist beständiger, da dieser Komplex stabiler ist und er, wie sich beim Vergleich der entsprechenden Absorptionsspektren ergibt, die erregende Strahlung stärker absorbiert (Abb. 2). Der Zinkkomplex des Reagens *II* ist unter Versuchsbedingungen zum Unterschied vom Komplex *I* unlöslich. Das neu ausgearbeitete Verfahren zur fluorometrischen Zinkbestimmung mit Hilfe des Reagens *I* ist fast zehnmal empfindlicher als die Verfahren unter Zuhilfenahme von früher vorgeschlagenen Salicylaldehydderivaten¹⁵.

LITERATUR

1. Holzbecher Z.: Chem. listy, 66, 7 (1972).
2. Holzbecher Z.: Chem. listy 47, 680 (1953).
3. Boževolnov J. A.: Trudy IREA 22, 65, 70 (1958); Ref. Ž. Chim. 14, 227 (1959); 16, 1079 (1961).
4. Patrovský V.: Chem. listy 48, 537 (1954).
5. Holler P.: *Dissertation*. Technische Hochschule für Chemie, Prag 1971.
6. Raifold P. W., Clark J. R.: J. Am. Chem. Soc. 45, 1740 (1923).
7. Witkop B., Beiler T.: J. Am. Chem. Soc. 76, 5589 (1954).
8. Sýkora V., Zátka V.: *Příruční tabulky pro chemiky*. Herausgegeben von SNTL, Prag 1961.
9. Breitschwerdt K., Förster T., Weller A.: Naturwissenschaften 43, 443 (1956).
10. Weller A., Porter G.: *Progress in Reaction Kinetics* B. 1, S. 189. Pergamon Press, London 1961.
11. Sommer L., Jin-Tsin Jao: Chem. listy 55, 574 (1961).
12. Holzbecher Z.: Chem. listy 48, 1160 (1954).
13. Eckschlager K.: *Chyby chemických rozborů*. Herausgegeben von SNTL, Prag 1961.
14. Holzbecher Z.: diese Zeitschrift 24, 3915 (1959).
15. Holzbecher Z.: Chem. listy 49, 684 (1955).

Übersetzt von K. Grundfest.