慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	アゾ色素合成実験での二酸化窒素発生への注意
Sub Title	Caution against evolution nitrogen dioxide in a synthetic experiment of azo pigment
Author	杉山, 晴紀(Sugiyama, Haruki) 大場, 茂(Ōba, Shigeru)
Publisher	慶應義塾大学日吉紀要刊行委員会
Publication year	2019
Jtitle	慶應義塾大学日吉紀要. 自然科学 (The Hiyoshi review of natural science). No.66 (2019. 9) ,p.1- 18
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	研究ノート
Genre	Departmental Bulletin Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN10079809-20190930-0001

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

Hiyoshi Review of Natural Science
Keio University No. 66, 1-18（2019）

アゾ色素合成実験での二酸化窒素発生への注意

杉山晴紀*・大場　茂*†

Caution Against Evolution Nitrogen Dioxide in a Synthetic Experiment of Azo Pigment

Haruki Sugiyama and Shigeru Ohba

1. 概要

慶應義塾大学日吉キャンパスにおける文系学生を対象とした化学実験のテーマの1つとして，「*p*-ニトロアニリン赤の合成と染色」を2000年以前から行っている。この実験では，ジアゾカップリングを利用して綿布に文字や絵を描く。その前段階としてアニリン誘導体のジアゾニウム塩溶液を調製する際に，亜硝酸ナトリウム $NaNO_2$ を使用する。しかし，実験操作を誤ると（三酸化二窒素 N_2O_3 に起因して）溶液が淡青色となり，褐色で有毒な二酸化窒素 NO_2 が発生する。それを回避するためには，試薬の亜硝酸ナトリウムを正確に秤量し，指定された量を超過させないことが重用である。亜硝酸ナトリウムと塩酸とが反応して生じる亜硝酸 HNO_2 は，ジアゾニウム塩の生成過程で消費されるが，余剰分は分解されて NO_2 が生じる。その反応機構を文献で調べ，NO_2 が急激に発生する条件を実験で検証した。また，染色現象の分子レベルでの解釈，そしてアゾ色素の皮膚への影響についても考察した。

2. はじめに

有機色素，特にアゾ化合物の合成ならびに染色は定番の学生実験のテーマである。これを通して実生活への化学の応用が実感できる。アゾイック染料はナフトール染料ともよばれ，綿布

* 慶應義塾大学自然科学研究教育センター（〒223-8521 横浜市港北区日吉4-1-1）：Research and Education Center for Natural Sciences, Keio University, 4-1-1 Hiyoshi, Kohoku-ku, Yokohama 223-8521, Japan.［Received Feb. 28, 2019］
† 現在，慶應義塾大学名誉教授

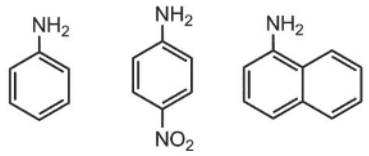


図 1.（a）アニリン，（b）*p*-ニトロアニリン，（c）1-ナフチルアミン
これらを原料として，それぞれ橙，赤，紫のアゾ色素が得られる。

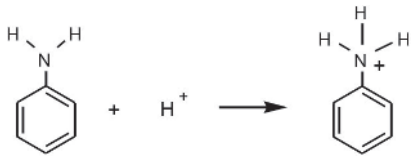


図 2. 酸性溶液中でのアニリニウムイオンの生成

の染色に適している[1)]。その過程でジアゾニウム塩を生成させるために，亜硝酸ナトリウムを用いる。しかし，その取扱いを誤ると有毒な気体 NO_2 が発生する。過去に上皿天秤もしくは 0.01 g まで計測可能な電子天秤を実験に用いた際には，このようなことは起こらなかった。ここ数年，上記のトラブルが私達の学生実験でみられるようになったのは，最小表示 0.1 g の小型電子はかりを使うようになった頃とほぼ一致する。しかし，問題の根本原因は不明であった。

亜硝酸ナトリウムと塩酸から亜硝酸 HNO_2 が生じ，それが二酸化窒素 NO_2 の発生と関係していることは容易に想像できた。しかし，その反応機構の詳細ならびにジアゾニウム塩生成反応との関係が不明瞭であった。問題解決に向けて文献を調べていく過程で，水溶液中における亜硝酸の分解反応が鍵を握ることが推測できたので，検証実験を行ってトラブルの原因を追究することにした。

3. *p*-ニトロアニリン赤の合成と染色の実験

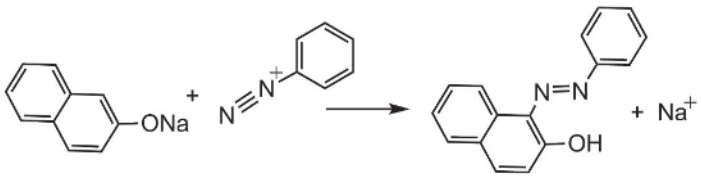
3-1　学生実験の内容

私達が行っている学生実験の内容は次の通りである。アニリン 0.2 mL，または *p*-ニトロアニリン 0.2 g，または 1-ナフチルアミン（図 1）約 0.003 g（ミクロスパーテルで 0.5 さじ程度）を試験管に入れ，3 mol/L 塩酸を 6 mL 加えて（アニリンは加熱しなくても溶けるが，他の場合は軽く加熱して）溶解させた後，氷水で十分に冷却する。これを A 1 液とする。なお，アニリンが塩酸に溶けやすいのは，アニリニウムイオンとなるからである（図 2）。次に，別の試験管に亜硝酸ナトリウム 0.2 g をとり，水 1 mL を加えて加熱せずに完全に溶かしてから氷冷する（A 2 液）。A 1 液に A 2 液を混ぜてガラス棒で撹拌し，さらに氷冷する。これによりジア

図 3．染色した布の例（3 色刷り，2 作品）

ゾニウム塩が生成する（A 液）。一方，50 mL ビーカーに 2–ナフトールを 0.4 g 入れ，2 mol/L 水酸化ナトリウム水溶液を 5 mL 加えて溶かす（B 液）。2–ナフトールは加熱しなくても水酸化ナトリウム水溶液に溶ける。それは，式（1）のようにナトリウムオキシドとなり，水に対する溶解度が上がるからである。染色の前に，ろ紙上で A 液と B 液をガラス棒を用いて混ぜ合わせ，発色することを確かめる。このとき，式（2）に示すようなカップリング反応が起きる。その反応機構については参考図書を参照 [2)]。

(1)



(2)

水洗いした綿布を絞ってから B 液に浸す。そして，綿布を取り出して絞ってからペーパータオルの上に広げ，金網越しにバーナーの熱風を利用して半乾きの状態にする。つまようじの先端に A 液をつけ，それを綿布に接触させて文字や絵を描く。異なるアニリン誘導体から作った A 液を併用すると，多色刷りとなる（図 3）。染色が終わったら，綿布を十分に水洗した後，さらに洗剤で揉み洗いして薬品を落し，最後に布をドライヤーで乾燥させる。

なお，*p*–ニトロアニリンと 2–ナフトールとのカップリングで生成する色素はパラレッドとよばれ，アゾ顔料としてポスターカラーなどに使用される。耐水性はよいが，分子量が比較的小さいため耐溶剤性に劣る [3)]。

表 1．学生実験中の二酸化窒素発生事例

事例	A 1 液（アニリン誘導体の塩酸溶液）	A 2 液（$NaNO_2$ 溶液）	A 液（A 1 液と A 2 液の混合液）	褐色気体の発生状況
No. 1	アニリン (ほぼ無色)	無色	淡橙色のはずが淡青色	激しく発泡*1)
No. 2	パラニトロアニリン (淡黄色)	無色	淡黄色のはずが淡青色	気体発生は弱い*2)

*1) 亜硝酸ナトリウムを水によく溶かさずに，室温で A 1 液と A 2 液を混ぜた。
*2) A 1 液も A 2 液も完全に溶かした状態で，氷冷してから混合した。

3–2　二酸化窒素の発生トラブル

学生実験で二酸化窒素が急激に発生したときの状況を表 1 に示した。事例 1 では，亜硝酸ナトリウムを水に完全に溶かさず，また氷冷せずにアニリンの塩酸溶液と混ぜたところ，A 液が淡青色となり褐色の気体 NO_2 が試験管から止めどなく発生した。このときは，その試験管をすみやかにドラフトに移し，氷水に浸してしばらく放置した。事例 2 では，$NaNO_2$ を完全に水に溶かし，しかも氷冷してから A 1 液と A 2 液を混ぜたのにも関わらず，A 液が淡青色となり二酸化窒素が発生した。

これらのトラブルの原因を模索している段階で，小型の電子はかり（島津製作所〔株〕製 PZ–200，最小表示 0.1 g）では試薬 0.2 g が正しく測れないという疑いが発覚した。実験中に，学生から電子はかりでうまく秤量できない，すなわち薬包紙に試薬を盛っても数値がまったく増えないという訴えがあった。そこで，数台の電子はかりの動作をチェックしたところ，1 個約 0.7 g の画びょうは即座に正しく計量できたが，0 ～ 0.2 g の範囲の重量変化に対しては感度が低いことに気がついた。その原因として，実験台付近にあるエアコンからの暖気の影響も考えられた。後述するように，検証実験の結果，エアコンは無関係であり，使用した電子はかりが試薬 0.2 g の計量には適さないことが判明した。

3–3　他でのアゾ色素合成の実験例

参考図書で類似のアゾ色素合成実験を調べたところ，多くの場合は布を色素で単純に染めるだけであり，私達のように綿布上でカップリングさせて描画している例は他になかった。また，*p*–アミノベンゼンスルホン酸と *N,N*–ジメチルアニリンとのカップリングで，メチルオレンジを合成している例がみられた [4)]。いずれの実験でも，アニリン誘導体の塩酸溶液に亜硝酸ナトリウム水溶液を加えることは共通しており，それを逆にしている例はなかった。

二酸化窒素の発生に関しては，2 つの溶液をまぜたときに「褐色ガス（NO_2）が発生する」と述べている例があった [5)]。反応時における亜硝酸 HNO_2 の濃度を計算してみたところ，私達の実験に比べてやや多めであった（表 2）。過剰な HNO_2 を分解除去するために，2 液を混ぜてジアゾニウム塩を生成させてから尿素を加えている例もある [4)]。

表 2．亜硝酸の濃度

		私達の学生実験		参考図書[5]
A 1 液		3 mol/L 塩酸 6 mL		3 mol/L 塩酸 6 mL, アニリン 0.5 mL，水 5 mL
		p–ニトロアニリン 0.2 g	アニリン 0.2 mL	
A 2 液		$NaNO_2$ 0.2 g, 水 1 mL		$NaNO_2$ 0.5 ～ 1.0 g, 水 10 mL
HNO_2 の濃度 (mol/L)	混合直後*1)	0.43		0.36 ～ 0.71
	ジアゾ化後*2)	0.21	0.11	0.09 ～ 0.44

*1) A 1 液に A 2 液を加えた直後にすべての NO_2^- が HNO_2 になったと仮定したときの濃度。
*2) アミンのジアゾ化によって消費される分を除いた濃度。

$$2HNO_2 + (NH_2)_2C=O \longrightarrow 2N_2 + CO_2 + 3H_2O \quad (3)$$

なお，亜硝酸を分解させて，窒素だけを発生させたいときにはアンモニア水が用いられる[6]。

$$HNO_2 + NH_3 \longrightarrow N_2 + 2H_2O \quad (4)$$

3–4　過剰な亜硝酸

ジアゾニウム塩生成の際に，アニリン誘導体に対して亜硝酸ナトリウムは 1：1 で反応する（次節参照）。私達の学生実験では，アニリン 0.2 mL（密度 1.02 g/cm^3）あるいは *p*–ニトロアニリン 0.2 g に対する $NaNO_2$ 0.2 g の物質量は，それぞれ 1.31 倍と 2.00 倍で過剰になっている。1–ナフチルアミンに対しては，それ以上に過剰である。HNO_2 の分解よりもジアゾ化の反応が十分速いとしても，余分な亜硝酸は徐々に分解されていくことになる。ジアゾ化反応の前後で，$NaNO_2$ から生じた HNO_2 が仮にそのままの形で溶液内に存在すると仮定すると，亜硝酸の濃度は 0.1 ～ 0.4 mol/L 程度である（表 2）。そして，亜硝酸は溶液の濃度がたとえ 0.1 mol/L 以下でも分解が進行する[6]。

4．反応機構

4–1　ジアゾニウム塩の生成機構

A 1 液（ここではアニリンの塩酸溶液とする）を A 2 液（亜硝酸ナトリウム水溶液）へ混ぜることにより，亜硝酸 HNO_2 が生じる。

$$NaNO_2 + HCl \longrightarrow HNO_2 + NaCl \quad (5)$$

すなわち，塩酸は強酸であるがゆえに，弱酸である亜硝酸が遊離する。ちなみに，その 25℃における p*K*a は 3.15 である[1]。HNO_2 は $H_2NO_2^+$ や N_2O_3 などに変化し，さらにそれらを介してニトロシルイオン NO^+ が生じる。

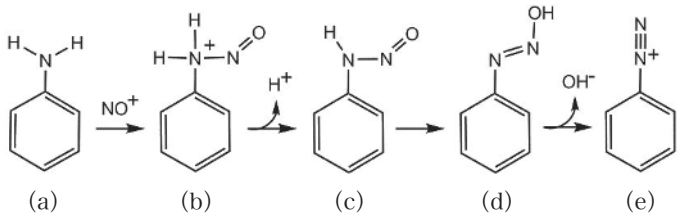


図 4．アニリンのジアゾ化の反応機構
（a）から（b）への変化が律速段階である。

$$HNO_2 \quad + \quad H^+ \longrightarrow NO^+ \quad + \quad H_2O \tag{6}$$

アニリンなど芳香族第一級アミンのジアゾ化については，反応速度の測定をもとに反応機構が推定されている（図 4）[7), 8)]。アミノ基の窒素原子に求電子攻撃するのは，ニトロシルイオン NO^+，あるいは次に示すような他の分子やイオンにそれが結合した化学種である。

$$NO^+, \quad NO \cdot OH_2{}^+, \quad NO \cdot NO_2, \quad NO \cdot OH, \quad NO \cdot Cl \tag{7}$$

以下では単純化してニトロシルイオンだけを取り上げ，それがアニリンと反応する様子を説明する。図 4 で（a）から（b）への変化が律速段階であり，それ以降の反応は速く起こり，ジアゾニウムイオン（e）へと至る。なお，溶液の酸性度が高いとき，特に 1–ナフチルアミンについては，中性分子だけでなくそれがプロトン化したイオンもジアゾ化反応の対象となる [9)]。

4–2　酸性水溶液中における亜硝酸の分解反応

A 1 液と A 2 液を混ぜたときに生じる亜硝酸は，アニリン誘導体のジアゾ化反応を起こすだけでなく，次のような分解反応が進んで消失していく。

$$2HNO_2 \longrightarrow NO \quad + \quad NO_2 \quad + \quad H_2O \tag{8}$$

この反応は以下に示す素過程からなると考えられる [6)]。

$$2HNO_2 \rightleftharpoons N_2O_3 \quad + \quad H_2O \tag{9–1}$$

$$N_2O_3 \rightleftharpoons NO \quad + \quad NO_2 \tag{9–2}$$

また，溶液中では次のような反応も起こる。

$$2NO_2 \quad + \quad H_2O \longrightarrow HNO_2 \quad + \quad NO_3{}^- \quad + \quad H^+ \tag{10}$$

その素過程は以下の通りである。

$$2NO_2 \rightleftharpoons N_2O_4 \tag{11-1}$$

$$N_2O_4 + H_2O \rightleftharpoons HNO_2 + HNO_3^- + H^+ \tag{11-2}$$

反応途中に生じる三酸化二窒素 N_2O_3 は青色を呈する（吸収極大波長 665 nm）[10]。また，四酸化二窒素 N_2O_4 は，気相あるいは液相中で二酸化窒素 NO_2 と平衡の状態にある [1]。

密閉した容器内の気液平衡とは異なり，空気に接した開放系容器の場合は，水溶液中の HNO_2 が NO と NO_2 に分解され，NO（無色気体）は空気に触れるとすぐ酸化されて褐色の NO_2 になる。

$$2NO + O_2 \longrightarrow 2NO_2 \tag{12}$$

式（8）の反応速度定数が実験により求められていて，0℃に比べて 20℃のときに 1.6 倍となる [11]。つまり，氷冷していないと亜硝酸の分解が早く進む。また，亜硝酸は溶存酸素によっても分解されて，この場合は硝酸となる [12]。

$$2HNO_2 + O_2 \longrightarrow 2HNO_3 \tag{13}$$

上記のように，水溶液中の亜硝酸が分解されて二酸化窒素として空気中に放出されるが，その逆の反応も起こる。実は，それは窒素酸化物が酸性雨を生じさせる原因である。このことを利用して，サンプリングした空気中の NO_2 濃度を分析する方法が開発された。それは酸性条件下で一定体積のアニリン誘導体水溶液に，その気体試料を密閉容器中でバブリングさせ，ジアゾ化ならびにカップリング反応により色素を生成させて，その吸光度からサンプル気体中の NO_2 濃度を求める方法である。その際に NO_2 から NO_2^- への変換効率は 76％と推定される [13]。

5. 実験

5-1　計量の不具合

有毒気体 NO_2 発生のトラブルの際に，島津製作所（株）製の電子はかり PZ-200 を使用していた。それは最大秤量 200 g，最小表示 0.1 g でロードセル式である（図 5）。精密な電子天秤は電磁式や音叉振動式などであるが，小型化には向かない。一方でロードセル式はアルミ等でできた金具のたわみ具合を数値化する仕組みで，構造が簡単で比較的安価であるという長所をもつが，短所は重量測定の精度があまりよくないことである。特に微小量を測定する際に，はかりが全く反応しなかったり反応が遅いこともある [14]。取り扱い説明書には，「ゼロトラッキング機能を無効にすれば微小量を計量することができる」と書かれていた。ゼロトラッキングとは，天秤のゼロを表示する際に，できるだけ値が変化しないようにゼロ点補正する機能である。

トラブル発生の原因として，電子はかりの不適切な使い方が疑われた。そこで，実験室のエ

図 5．電子天秤と電子はかり
（左）電子天秤は音叉振動式で新光電子（株）製 ViBRA SJ-620 JS，最小表示 0.01 g。
（右）電子はかりはロードセル式で島津製作所（株）製 PZ-200，最小表示 0.1 g。

アコンをつけた状態で，電子はかり PZ-200 で 0.2 g を計量したときに，どの程度正確であるかを調べた。まず，はかりに薬包紙をのせ，表示を 0.0 g にリセットしてから，表示が 0.2 g になるまで（小さいスパチュラ 1 さじ 10 mg 程度で数十回）$NaNO_2$ の粉末を盛り，その重量を薬包紙ごと最小表示 0.01 g の電子天秤で測定した。薬包紙 1 枚の重さは 0.30 g であったので，それを差し引くと測り取った正味の重さが求まる。エアコンからの暖気の影響を検査するために，電子はかりを横 2 列で計 6 台並べ，エアコンの on/off そして電子はかりのゼロトラッキング機能の on/off の条件を変えて計測をくり返した。なお，同じ条件で 1 台のはかりについて 3 回測定した。測定の結果，はかり 6 台の設置場所による違いは見られなかった。そこで，計 18 回の計量データを平均し，またその標準偏差を求めた（図 6）。最初に行った測定（エアコン on でゼロトラッキング on）で，0.2 g を測り取っているはずが平均で 0.41（19）g にもなってしまった。なお，カッコ内の数字は標準偏差であり，この場合は 0.19 g であることを表す（以下同様）。同じ条件で最後にもう一度測定したところ，平均で 0.23（8）g と落ち着いたことから，最初の測定の際にはエアコンおよびゼロトラッキング機能の on/off とは別の要因が働いたといえる。電子はかりは試薬を追加で盛り付けてもすぐには応答せず，数秒遅れて表示値が上がるという特徴が見られた。それを知らずに，また 0.2 g がどの程度のかさ高さかの見当もつかない内に次々と試薬を追加し続けると，表示が 0.2 g になる頃にはかなり超過してしまう危険性がある。

図 6 では，測定条件の違いをプロットのマークで区別している。最初の計量結果は，実験者が上述した電子はかりの特徴を知らず，少量の計測に不慣れであったことが影響したと思われる。このため，その実験データを除いて比較すると，エアコンの on/off による計量の差はほとんどなく，ゼロトラッキングを on にすると off のときよりも平均で約 0.02 g 多めになると推

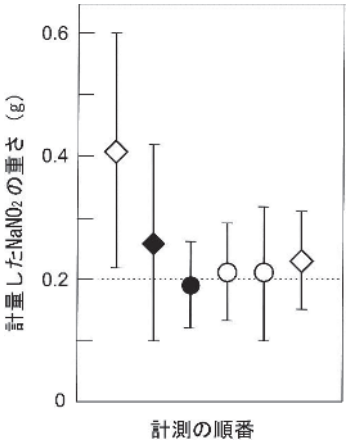


図 6．電子はかりによる $NaNO_2$ 0.2 g の計測結果

◇はゼロトラッキング on，○は同 off，白抜きはエアコン（暖房）on，黒塗りは同 off を表す。各計測で電子はかり 6 台についてそれぞれ 3 回測り取り，電子天秤で測り直した重さの平均値ならびに標準偏差 $\pm\sigma$ をエラーバーで示した。

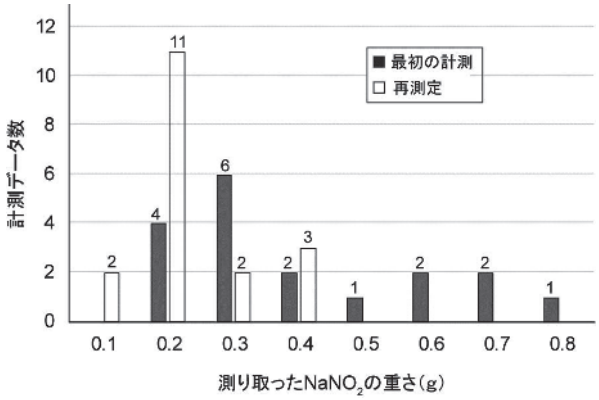


図 7．電子はかりの表示が 0.2 g となるまで盛った $NaNO_2$ の重さの頻度分布

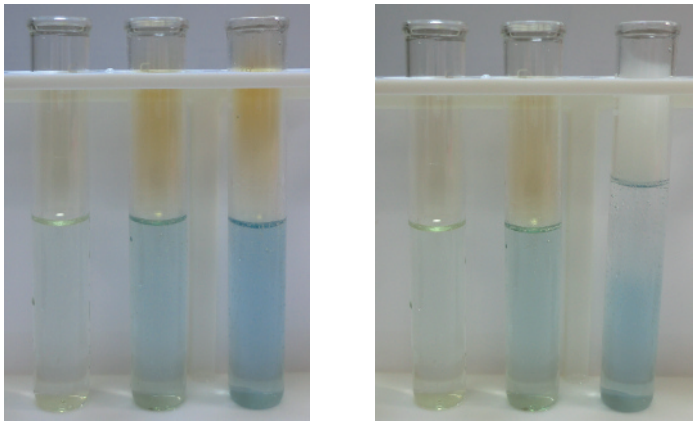
縦軸はデータ数（計 18）。黒および白は，図 6 の最初と最後のプロットに対応する。どちらも，エアコンならびにゼロトラッキングは on である。例えば横軸が 0.6 g の区分は計測値が 0.55 ～ 0.64 g であることを意味する。

定される。ただし，平均値よりも，問題は計量値のばらつきが予想以上に大きいことである。図 7 に計量値の頻度分布を示した。最初の計測では測り取った $NaNO_2$ の範囲が 0.20 ～ 0.83 g，同じ条件での再測定では 0.12 ～ 0.44 g であり，最頻値が 0.2 g 付近ではあるものの，それよりも重量超過して倍以上になったときが 3 ～ 6 回に 1 回の割合で生じている。ゼロトラッキングを off にしても，0.2 g の計量試験を何回かくり返していると，盛り付け続けても一向に表示値が変わらず，計量値が大幅に超過する現象がたまにみられた。

電子はかりが少量の重量変化に応答しにくいのは，負荷がかかっていないゼロ点付近だからという可能性も考えられた。そこで，エアコン on およびゼロトラッキング on の条件で，6 台の電子はかりで秤量皿にあらかじめ 10 円硬貨 2 枚（8.9 g）と薬包紙 1 枚をのせて風袋ボタンを押して 0.0 g を表示させてから，各 3 回ずつ計量し直してみた。しかし，本来 0.2 g のところ，計量結果は 0.13 ～ 0.65 g，平均で 0.29（14）g となり，負荷に対する感度ならびに精度は改善されないことがわかった。

5–2　二酸化窒素発生の条件

どのような条件が重なると二酸化窒素が激しく発生するのかを検証した。まず，$NaNO_2$ の量が超過している場合について，以下のような試行実験を行った。A 1 液として 3 mol/L 塩酸 6 mL を 3 本の試験管にとり（ただし，アニリン誘導体は入れないで），氷冷した。A 2 液として別の 3 本の試験管に $NaNO_2$ を 0.2，0.4，0.6 g 測りとり，それぞれ水 1 mL に完全に溶かし

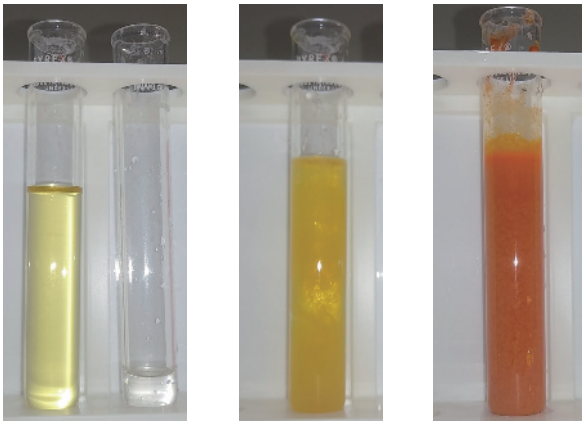


(a)　(b)

図 8．亜硝酸の分解の様子
(a) 水 1 mL に $NaNO_2$ を溶かして氷冷し，そして氷冷した 3 mol/L HCl 6 mL にそれぞれ加えた。左から順に $NaNO_2$ は 0.2，0.4，0.6 g。
(b) 一番右の試験管に 6 mol/L アンモニア水を追加した直後の様子（ただし攪拌はまだしていない）。

てから氷冷した。ちなみに，$NaNO_2$ の溶解度は 84.5 g/ 100 g 水（25℃）である [1)]。ドラフト内で A 1 液に A 2 液を加えて，反応の様子を観察した。（試行 1）$NaNO_2$ 0.2 g のとき，2 液が混ざり合ったところが一瞬青色となり，それが広がって青色がかすかに薄く残る程度になった。また，試験管の液面付近は，やや褐色になった。ただし，よく見ないと褐色であることがわからない程度である（図 8（a））。（試行 2）$NaNO_2$ 0.4 g のとき，反応液全体が明らかに薄い青色になり，盛んに褐色の気体が発生した。試験管の口を指で塞ぐと，発生した気体の褐色が徐々に色あせていくが，指を離すと試験管内の気体の褐色がすぐに濃くなった。これは NO に比べて NO_2 の水に対する溶解度が高いこと [11)]，そして指の封を外したことで入ってきた空気中の酸素により，無色の NO が酸化され褐色の NO_2 になったことで説明できる。（試行 3）$NaNO_2$ 0.6 g のときは，0.4 g のときと比べて混合液の青色が増し，盛んに発泡して液面より褐色の気体が発生した。これは表 1 の事例 1 に匹敵するような気体発生の状況であった。それへの対処として，そこに 6 mol/L アンモニア水を少量加えたところ，溶液上部の青色が消え，また褐色の気体発生もほぼなくなり（図 8(b)），溶液中から細かい気泡が発生し続けた。式 (4) からわかるように，この気体は窒素である。ガラス棒で攪拌したところ，急激に気泡を発しながら液全体が無色透明となった。

次に他の要因，すなわち氷冷の不備と粉末試薬残留の影響について調べた。溶液の濃度と量は指定のままとした。すなわち，A 1 液は 3 mol/L 塩酸 6 mL，A 2 液としては $NaNO_2$ 0.2 g に水 1 mL を加えた。（試行 4）$NaNO_2$ を水に溶かし，（氷冷せずに）室温のまま A 1 に A 2 を入れたところ，液中から透明な細かい泡がさかんに発生し，液面上部の気体は褐色を呈した。ただし，溶液の色はかなり薄い青であった。（試行 5）$NaNO_2$ に水を加えただけで，底に粉末



(a)　(b)　(c)

図 9．アニリン 2.0 mL のときの A 液
（a）混合前の A 1 液と A 2 液，（b）混合直後，（c）さらに数分経過後の様子。

が溶け残っている状態で，室温のまま（わざと間違えて）A 2 に A 1 を加えたところ，液中から細かい泡がかなり激しく沸き起こり，液面より上部は褐色気体となった。ただし，溶液の青色はうすかった。

5–3　A 液の色

表 1 に示した A 液の色を確認するために，A 1 液にアニリン 0.2 mL または *p*–ニトロアニリン 0.2 g を含む場合についても，検証実験を行った。まず, A 2 液として $NaNO_2$ 0.2 g（標準量）を用いたとき，調製直後の A 液は，どちらも淡黄色であるが，明らかにアニリンのほうが薄い色であった。しかし，数分後にはアニリン A 液のほうが色がやや濃くなり，そして淡橙色へと変わった。アニリンの量をわざと間違えて 2.0 mL にしたときの反応も調べた（このようなミスは実際の学生実験で希にみられる）。このときは A 1 液の段階からすでに淡黄色であった（図 9（a））。それに A 2 液を加えると直ちに橙色になり，そして懸濁が進み，数分後には赤橙色となり粘性が増した（図 9（c））これは，後述するようにアニリンが縮合するためと推定される。

次に，A 2 液として $NaNO_2$ 0.4 g（過剰量）を用いたとき，アニリンでも *p*–ニトロアニリンでも，A 液は淡青色となり，盛んに発泡して液面から褐色の二酸化窒素が発生した。ジアゾニウム塩も生成しているはずであるが，溶液の色は亜硝酸の分解に伴う淡青色のほうが目立つことが確認できた。

5–4　ナフチルアミンの量

1–ナフチルアミンは塩酸に溶けにくいため，学生実験では極少量を用いる。具体的にはミクロスパーテルで半さじ程度である。実験に使用する程度の量を精密天秤で 6 回測ってみたとこ

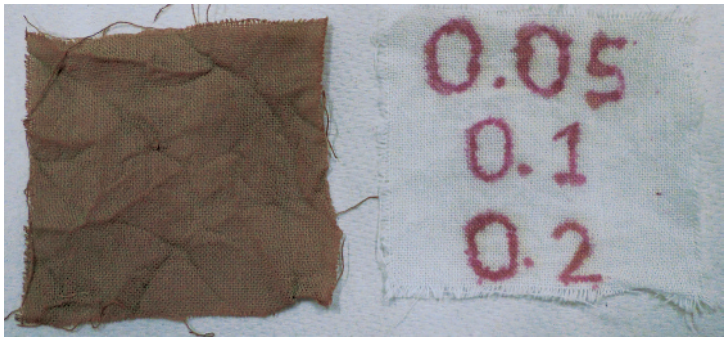


図 10．2 週間経過後の綿布
（左）2-ナフトールに浸し，洗浄せずに乾燥させた。（右）1-ナフチルアミンについて，$NaNO_2$ を 0.05，0.10，0.20 g それぞれ用いて染色し，水ですすぎ，洗剤で洗浄した。

ろ，2 ± 1 mg の範囲であった。仮に 3 mg として，それをジアゾ化させるために $NaNO_2$ の物質量が 2 倍あればよいとすると，A 2 液の調製に必要な $NaNO_2$ は 3 mg となる。これまでは，一律で $NaNO_2$ を 0.2 g 使用していたが，それはかなり過剰であったといえる。そこで，実際に $NaNO_2$ を 0.05，0.1 そして 0.2 g を用いたときの比較実験を行った。1-ナフチルアミンの量は 2.7 ～ 2.9 mg に統一した。これを 3 本の試験管に入れ，3 mol/L 塩酸 6 mL を加え，金網越しでバーナーを用いて加熱しながらガラス棒で攪拌して溶かし切った。この時点で溶液は無色であった。調製した A 液（ジアゾニウム塩の溶液）は淡黄色で，色の濃さには差がほとんどなかった。染色の結果も，0.05 g でも 0.1 g でも 0.2 g のときとほぼ同じであった（図 10）。なお，$NaNO_2$ 0.2 g の場合，A 1 液と A 2 液を混ぜたときに激しく気体が発生した。亜硝酸がかなり過剰な状況なので，これは避けるべきである。なお，0.05 g でも 0.1 g でも，ジアゾ化やカップリング反応が遅くなるということは全くなかった。

6. 考察

6-1　二酸化窒素の発生

有毒気体発生のトラブルは，誤って亜硝酸ナトリウムを規定量の数倍も使用したときに生じることが，検証実験で明らかとなった。しかも，その原因は最小表示 0.1 g のロード式電子はかりを 0.2 g の計量に使用したことにあった。冬季におけるエアコンの on/off やゼロトラッキング機能の on/off に関わらず，0.2 g として測り取った重さが倍以上になるというリスクが常にある。学生はロード式電子はかりの使い方に慣れていないことを勘案すると，場合によっては 0.2 g のはずが 0.7 ～ 0.8 g も測り取る危険性がある。アミンのジアゾ化および溶存酸素による亜硝酸の分解によって $NaNO_2$ が 0.2 g 消費されると仮定しても，最悪の場合 0.5 ～ 0.6 g の超過となってしまう。

A 1 液と A 2 液を氷冷してから混ぜるべきところ，室温のままで混合すると式（8）すなわ

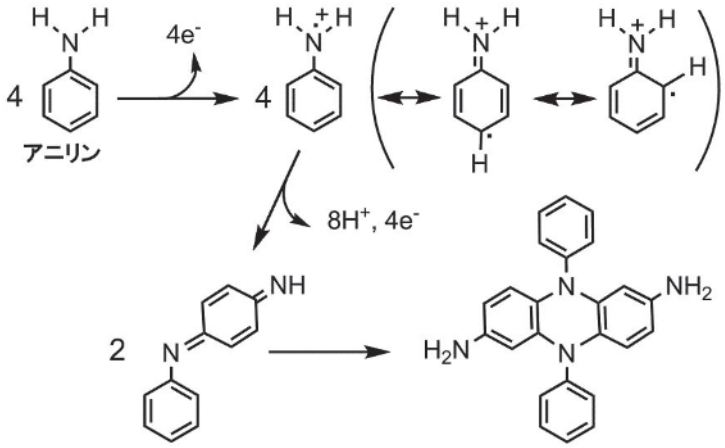


図 11．アニリンの縮合による四量体の形成

ち水溶液中における亜硝酸の分解反応が急速に起こる。溶液中では式（8）の逆反応ももっと速く起こるが，試験管のような開放系の容器では液面から盛んに NO や NO_2 が大気中に放出されることになる。A 1 液に A 2 液を加えるという順番は，亜硝酸 HNO_2 の濃度をできるだけ低く保つためである。もし逆にしたら，瞬間的に濃厚な亜硝酸水溶液が生じてしまう。特に，$NaNO_2$ の粉末が溶け残っていると，その周りで局所的に亜硝酸の濃度が高くなり，試験管の底から盛んに気泡が出るという状況になる。

結論として表 1 の事例については，いずれも $NaNO_2$ の量が 0.5 ～ 0.6 g 程度過剰であったことが第一の原因であった。さらに事例 1 では，室温で反応させるという操作ミスも重なったため，有毒気体の発生が急激に起こったと推定される。

6–2　別の予期せぬ反応

アニリンの A 液は調製直後には淡黄色であるが，次第に淡橙色へと変化する。アニリンは元々，空気に触れると徐々に酸化されて赤味を帯びるという性質を有する。これは，アニリンが縮合してオリゴマーが形成されるためである。四量体の生成反応の例を図 11 に示した [15]。これはフェナジン環を有し，アジン染料の一種である。今回の反応条件下では，アニリンの酸化剤として溶存酸素だけでなく，亜硝酸も寄与するであろう。亜硝酸が酸化剤として働くときの標準電極電位は次の通りである [16]。

$$HNO_2(aq) + H^+ + e^- = NO(g) + H_2O, \quad E^0 = 0.996\ \mathrm{V} \qquad (14\text{–}1)$$

亜硝酸は還元剤にもなり得るが，それは次式の逆反応に対応する。

$$N_2O_4(g) + 2H^+ + 2e^- = HNO_2(aq), \qquad E^0 = 1.07\ \mathrm{V} \qquad (14\text{–}2)$$

いずれにしても，亜硝酸あるいはその分解生成物がアニリンに対して酸化剤として働くと推定

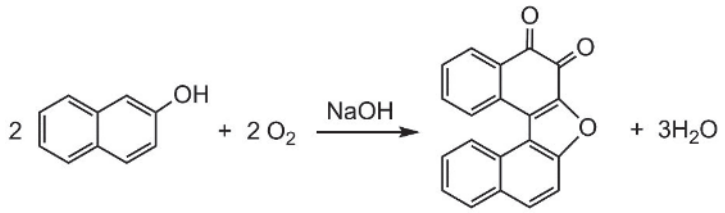


図 12. 2-ナフトールの空気酸化によるジナフト［2,1, 1 ’, 2 ’］フラン-5,6-ジオンへの変化

される。

染色の最後に綿布を洗剤で洗わないと，日を追うごとに白い下地が褐色になっていく（図 10 左）。これは，布に付着した 2-ナフトールがアルカリ条件下で空気によって酸化され，ジナフト［2,1, 1’, 2’］フラン-5,6-ジオン（褐色）が生じるためと推定される[17]（図 12）。紙に B 液を付着させると，乾燥して放置後，同様に褐色となる。

6-3　染色の分子レベルでの現象

布が色素で染まるということは，分子レベルで見るとどのような現象なのであろうか。綿はセルロースからできており，グルコースがβ-1,4-グリコシド結合で連結したポリマー鎖からなる。そのポリマー鎖は水素結合で凝集して結晶化した部分と，非晶質の部分とからなると考えられる。直接染料，つまり色素の水溶液に綿布を浸すことによる染色の場合について，セルロースと色素との分子間水素結合の形成がラマン分光法で検出されている[18]。また，アゾ染料の 1 つであるコンゴーレッドについて，セルロース結晶の表面に色素分子が接近して吸着する過程が，分子力場計算によってシミュレーションされている[19]。この場合，コンゴーレッドの 2 つのスルホン酸基 SO_3^- とセルロースのヒドロキシ基との間に働く静電力や水素結合の他に，芳香環によるファンデルワールス力も寄与している。つまり，色素と繊維との間の分子レベルにおける種々の相互作用によって，色素が繊維の表面に吸着した状態が保たれる。このため，洗剤を使っても色落ちしない。なお，セルロースの微小繊維が水和した状態や尿素などの染色助剤による効果についても，分子力場計算を用いた検討がなされている[20]。

学生実験では，B 液（2-ナフトールの水酸化ナトリウム水溶液）を布にしみ込ませてから，A 液（ジアゾニウム塩の塩酸酸性溶液）を加えてカップリングさせる。綿布を A 液ではなく，B 液に浸すのはなぜなのだろうか。実は綿布を天然染料などで濃く染色するのは難しく，前処理として水酸化ナトリウム溶液に浸すと染色性が上がることが知られている。この NaOH 処理により，セルロースの繊維は軸方向に縮み，直径が増す。この効果は，NaOH の濃度が高いほど大きくなる[21]。それは，セルロースの結晶が壊れて非晶質領域が広がるためと考えられる。そして，遊離のヒドロキシ基が増えることで吸水性も増し，色素分子が繊維の内部に侵入して吸着できるサイトも増え，より濃く染色できるようになる。なお，合成繊維についてはジアゾニウム塩を先に付着させてから A 液を添加するほうが，染色性が向上する場合もある[1]。

6-4　皮膚への色素の影響

染料の合成実験で，指が染まると1週間も取れなくなるのはなぜだろうか。食品の着色料はインジゴカルミン（別名：青色2号）のように水溶性であり，服や手についても比較的簡単に洗い流せる。その一方で，ローダミンBなどの染料は脂溶性が強いため，紙の繊維に吸着して離れにくくなる[22]。指の皮膚の表面は角質層であり，主にケラチン繊維からなる平坦な角質細胞が積み重なっている[23]。ケラチン繊維の基本単位はポリペプチド鎖である[24]。角質細胞は新陳代謝しており，皮膚の表面から順に剥がれる[23]。つまり，皮膚の表面の染色された細胞が剥がれ落ちて色が消えるまでに日数がかかるということである。なお，羊毛もケラチン繊維からなり[25]，色素によるその染色の様子が電子顕微鏡などを用いて調べられている[26]。ちなみに，アゾイック染料は動物繊維には適さない。なぜなら，タンパク質を水酸化ナトリウムの溶液に浸して加熱すると，ペプチド結合の加水分解が起こるからである[27]。

アゾ色素はヒトの皮膚などの細菌によって還元されると，芳香族第一級アミンが生じる。そのうち，ベンジジン（すなわち4,4'-ジアミノビフェニル）やその誘導体，そして2-ナフチルアミンなどが発がん性，あるいはそれが疑われる物質として警戒されている。そのようなアミン24種類について，分解してそれらが生じる可能性のあるアゾ色素の使用は，中国そして日本でも規制されている[28]。ただし，規制の対象は染料だけであり，顔料は除外される。ちなみに，学生実験で使用しているアニリンや*p*-ニトロアニリンおよび1-ナフチルアミンは規制対象外である。なお，2-ナフトールは経口あるいは吸入による急性毒性があるので，取り扱いには注意を要する。

ペンキに使われているような顔料は，塗り固められた後ならば手に触れても付着することはないので，上で述べた規制の対象外となっているのであろう。しかし，油断は禁物である。ある釣人がルアーを頻繁に塗装し，その度に同じペンキを左の親指に付着させていたせいで，細胞がんを発症したという事例があった[29]。その原因はアゾ色素が光で分解し，2-アミノ-5-ニトロフェノールが生じたためと推定された。

7.　学生実験への対応

7-1　電子天秤の整理など

私達の学生実験室に保管してある電子天秤が3種類あり，そのアダプターの出力電圧が異なるために，間違ってつなぐと天秤が不安定になるという不都合があった。そこで，天秤本体とそれに対応するアダプターに同じ色のラベルを貼って，組み合わせをわかりやすくした（図5参照）。また，実験テキストを修正して，1-ナフチルアミンを用いるときは$NaNO_2$の量を0.1 gに減らすことにした。

7-2　実験準備上の注意

二酸化窒素発生の危険性を回避するためには，0.01 gまで測れる電子天秤を用意する。また，

亜硝酸ナトリウムの量が 0.2 g よりも多いと有毒気体発生の危険性があることを掲示する。1-ナフチルアミンは固体であるが，塊になりやすいので事前に砕いておく。また，廃液ポリビーカーを学生実験台から撤去し，A 液と B 液は混ぜない状態で直接ポリタンクに回収させる。もし混ざると粘着性の色素ができ，ポリビーカーに付着して取れなくなってしまうからである。

7-3　実験指導上の注意

学生に次のような注意喚起を行う。A 2 液の亜硝酸ナトリウム 0.2 g は，ガラス棒を用いて完全に水に溶かすこと。混合前に A 1 液と A 2 液を氷冷し，A 1 液に A 2 液を混ぜること（逆は有毒気体発生のリスクが高まる）。1-ナフチルアミンの量を多くとりすぎると，希塩酸に溶かすのに苦労する。ナフチルアミンを多めにとってしまうと，3 mol/L 塩酸に加熱して溶かしたとしても，氷冷するとシャーベット状に固まってしまう。ガラス棒でくずして，そのまま A 液を調製しても，紫の色素は無事にできる。2-ナフトールは有害なので，粉をまき散らしたり手に触れないようにする。また，この B 液が付いた綿布を扱う際には，指への着色を防ぐために使い捨て用ビニール手袋を両手にはめさせる。そして，染色して水ですすいだ綿布を最後に洗剤をつけて必ず洗うように指導する。

参考文献

1）長倉三郎他編集（1998）『理化学辞典 第 5 版』岩波書店.

2）日本化学会近畿支部編（2003）『もっと化学を楽しくする 5 分間』化学同人.

3）桂宏光（1982）「顔料講座（第 5 講）有機顔料（II）赤色・橙色顔料」，色材 Vol **55**，742–757.

4）京都大学大学院人間・環境学研究科化学部会編（2008）『基礎化学実験』共立出版.

5）日本化学会編（1986）『新版 化学を楽しくする 5 分間』化学同人.

6）Rayson, M. S., Mackie, J. C., Kennedy, E. M. & Dlugogorski, B. Z. (2012) “Accurate rate constants for decomposition of aqueous nitrous acid,” *Inorg. Chem.* **51**, 2178–2185.

7）Schelly, Z. A. (1970) “Effect of the solvent on the kinetics of diazotization,” *J. Phys. Chem.* **74**, 4062–4067.

8）Hughes, E. D., Ingold, C. K. & Ridd, J. H. (1958) “Nitrosation, diazotisation, and deamination. Part I. Principles, background, and method for the kinetic study of diazotisation,” *J. Chem. Soc.* **58**, 58–65.

9）Casado, J., Castro, A., Iglesias, E., Pena, M. E., Tato, J. V. (1986) “Kinetics of acid and nucleophile catalysis of the diazotization of 1-naphthylamine,” *Can. J. Chem.* **64**, 133–137.

10）武内次夫，柘植新（1967）「液体四二酸化窒素中の三二酸化窒素の吸光光度定量法」，

Japan Analyst **16**, 1074–1077.

11）小林晴夫，竹澤暢恒，原一樹，仁木利則，北野邦尋（1976）「亜硝酸の分解反応機構」，日本化学会誌，383–387.

12）江口彌，谷垣昌敬，武藤邦夫，土屋博嗣，後藤英司，佐藤俊樹（1989）「酸性水溶液中における亜硝酸の自己分解」，化学工学論文集 **15** 巻，1102–1108.

13）Huang, Y., Shi, W., Zhang, C., Li, L. & Wen, H. (2016) “Diazo-coupling spectrophotometric determination of nitrogen oxides in the air,” *Atmos. Poll. Res.* **7**, 333–338.

14）島津製作所（株）のホームページ．https://www.an.shimatzu.co.jp/balance/hiroba/qa/qa 01.html（2018 年 12 月閲覧）

15）向井知大，小畠りか，大場茂（2011）「アセトアニリドの合成の実験条件とアニリンブラック」，慶應義塾大学日吉紀要・自然科学 No. **50**，61–75.

16）日本化学会編（2004）『化学便覧　改訂 5 版 基礎編 II』丸善，p. 582.

17）Brunnstrom, G. (1955) “The alkaline oxidation of 2–naphthol,” *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 2463–2465.

18）Pielesz, A., Wesełucha-Birczyńska, A. Freeman, H. S. & Włochowicz, A. (2005) “Characterizing of model direct dyes interactions with cotton cellulose via 1 D and 2 D Raman spectroscopy,” *Cellulose* **12**, 497–506.

19）Mazeau, K. & Wyszomirski, M. (2012) “Modelling of Congo red adsorption on the hydrophobic surface of cellulose using molecular dynamics,” *Cellulose* **19**, 1495–1506.

20）Baird, M. S., Hamlin, J. D., O’ Sullivan, A. & Whiting, A. (2008) “An insight into the mechanism of the cellulose dyeing process: Molecular modelling and simulations of cellulose and its interactions with water, urea, aromatic azo-dyes and aryl ammonium compounds,” *Dyes Pigm.* **76**, 406–416.

21）重田美智子，後藤博之，山田由佳子（2004）「NaOH 処理による綿布の物性とその染色性－染料の吸着差による染色と教材化－」，大阪教育大学紀要 第 V 部門 52 巻，153–167.

22）小畠りか，大場茂（2016）「ペーパークロマトグラフィーにおける R_f の意味」，慶應義塾大学日吉紀要・自然科学 No. **60**，7–15.

23）ドクターズオーガニック「表皮」．https://www.doctors-organic.com/hyouhi/index.html（2019 年 1 月閲覧）

24）片方陽太郎（1993）「ケラチンタンパク質の生化学－構造，機能，そして遺伝子まで－」，蛋白質 核酸 酵素 Vol **38**，2711–2722.

25）上甲恭平（2005）「ケラチン繊維の構造からみたプロテクト機能－クチクルおよび細胞膜複合体の役割－」，京都女子大学生活福祉学科紀要 Vol **1**，25–35.

26）Pielesz, A. (2004) “Characteristics of azo-dye binding sites on wool-fiber keratin,” *J. Appl. Polym. Sci.* **91**, 2629–2641.

27）引間貴子，野々村美宗（2009）「二相加水分解法による動物繊維の粉末化」，*J. Jpn. Soc. Colour Mater.* Vol **82**, 443–446.

28）菅谷なえ子，佐藤芳樹，高橋美津子，桜井克己，河上強志（2017）「繊維製品に含まれるアゾ色素由来の特定芳香族アミンの分析及びその原因色素の探索」，*Yakugaku Zasshi* Vol **137**, 95–109.

29）Engel, E., Ulrich, H., Vasold, R., König, B. & Landthaler, M. (2008) “Azo pigments and a basal cell carcinoma at the thumb,” *Dermatology* **216**, 76–80.