

長鎖アルキル基を有するアゾ化合物によるガリウムのけい光定量

喜納 兼勇, 白石 勝彦, 石橋 信彦*

(1976 年 4 月 9 日受理)

ルモガリオンに長鎖アルキル基としてヘキシル基を導入した 5-ヘキシル-ルモガリオン (Hexyl-LUMO) を合成し, ガリウムのけい光定量試薬としての検討を行った。

pH 2.7~4.0 の領域で生成する 1:1 組成のガリウム錯体は容易にメチルイソブチルケトン (MIBK) 中へ抽出され, 励起波長 $\lambda_{ex}=493\text{nm}$, けい光波長 $\lambda_{em}=580\text{nm}$ で測定した場合, 等濃度の水溶液と比較して約 25 倍も強いけい光を示す。ppb 程度の定量も容易である。ガリウム定量の際, Hexyl-LUMO を用いる MIBK 抽出法は共存する他の金属イオン, 特にアルミニウムの妨害や遷移金属の消光による妨害などを軽減し, 従来のルモガリオン法に対して著しく選択性が向上していることを確かめた。置換長鎖アルキル基の存在は錯体と界面活性剤ミセルとのより強い相互作用をもたらすことが, 量子収率, けい光偏光度スペクトルの測定から結論された。

1 緒言

けい光性金属錯体を生成させて微量金属の定量を行う場合, 界面活性剤のミセルの共存はけい光強度の著しい増大をもたらすことを見だし, この現象を利用してルモガリオンを用いるアルミニウム¹⁾, ガリウム²⁾, あるいはスルホキシンによる亜鉛³⁾, の高感度けい光定量が可能であることを先に報告した。更に界面活性剤のミセルの利用のみならず, 配位子である試薬それ自身が界面活性能を有するような場合の錯形成反応, あるいは又どのようなけい光挙動を示すかについては非常に興味深い。界面活性試薬の金属錯体と界面活性剤ミセルとでは混合ミセル生成などの強い相互作用も又期待される。

ルモガリオンはガリウムに対して高感度で, 又比較的选择性の高いけい光定量試薬であることが報告されて以来^{4)~6)}, 海水中⁷⁾, あるいは生体試料中⁸⁾, の極微量ガリウムの定量に应用されている。本報においてはこのルモガリオンに長鎖アルキル基を導入し, 界面活性能を有する試薬の合成を試み, けい光定量試薬としての検討を行った。長鎖アルキル基を持つアゾ化合物はその界面活性能及び染料として用いた時ののはっ水性の面に着目して⁹⁾, いくつか合成されているが分析化学的应用はまだなされていない。特にけい光発現に有利なことが指摘されている *o, p, o'*-トリヒドロキシアゾ化合物¹⁰⁾ の長鎖アルキル置換基を有するものは本報で述べるルモガリオン

誘導体以外は見当たらない。又, ルモガリオンのような *o, p, o'*-トリヒドロキシアゾ化合物を溶媒抽出試薬として用いる際に, 生成錯体は高級アルコールにのみ定量的に抽出されるにすぎないが¹¹⁾, ここで述べる長鎖アルキル基置換ルモガリオンは油溶性の増大により溶媒抽出けい光試薬としても有利なことが期待される。

2 試薬及び装置

2.1 試薬

5-ヘキシル-ルモガリオン (Hexyl-LUMO) の合成は以下のようにして行った。

あらかじめ再結晶により精製した 2-アミノ-4-クロロフェノール-6-スルホン酸 2.24 g を 20 ml の水に溶解し, 濃塩酸 2.66 ml を加え, 食塩・氷により 0°C 以下とする。激しくかくはんしつつ, 少量の水に溶解した亜硝酸ナトリウムを滴下しジアゾ化を行う。別にヘキシルレゾルシノール 1.94 g を 3 g の水酸化ナトリウムを含む水 250 ml に溶解し, かくはんしつつ先に得られたジアゾニウム塩溶液を滴下し, カップリングを行う。更に 3 時間かくはんし, 1 夜放置後, 塩酸酸性とし結晶を取り出す。得られたアゾ化合物は弱塩酸酸性とした水-エタノール混合溶媒中より数回再結晶した。元素分析結果及び $\text{C}_{18}\text{H}_{20}\text{O}_6\text{N}_2\text{SClNa}$ としての計算値は以下のとおりである。

	H%	C%	N%
分析値	4.50	48.05	5.96
計算値	4.47	47.95	6.21

合成原料のジアゾ成分, カップリング成分ともに東京化成製を使用した。

ルモガリオン溶液: 同仁薬化学製を 10^{-3}M 溶液とし, 使用時希釈した。

* 九州大学工学部工業分析化学教室: 福岡県福岡市東区箱崎 6-10-1

Hexyl-LUMO 溶液：合成した純品を 20% エタノール溶液に溶解して 10^{-4} M とし、使用時希釈した。

ガリウム標準溶液：キシダ化学製酸化ガリウム（純度 99.99%）を濃塩酸に溶解し、 10^{-4} M 貯蔵溶液を調製、使用に際して希釈した。

緩衝溶液：酢酸-酢酸ナトリウム溶液はあらかじめ試薬に混在するガリウムを Hexyl-LUMO により MIBK 抽出除去したものを使用した。

界面活性剤：ゼフィラミン (Zeph, 同仁薬化学製), 塩化セチルジメチルベンジルアンモニウム (Cetyl, 東京化成製), ポリエチレングリコールモノラウリルエーテル (PGME, 東京化成製) を使用した。

溶媒：原子吸光用 MIBK (キシダ化学製, 片山化学製) を使用した。蒸留水は 1 回蒸留後イオン交換し、更にガラス製蒸留器で再蒸留したものを使用した。

セッティング剤としては、ローダミン B $500 \mu\text{g/ml}$ 溶液を貯蔵原液とし、適宜希釈して使用した。

2.2 装置

けい光分光光度計にはスペクトル補正装置付き日立 MPF-4 形を、pH メーターは東亜電波製ガラス電極 pH 計 HM-5B 形を使用した。

3 定量操作法

0~0.38 $\mu\text{g/ml}$ までのガリウムを含む試料溶液を 50 ml 容量の共せん付き試験管に取り、 10^{-4} M Hexyl-LUMO 2% アルコール溶液 1 ml を加え、塩析剤として塩化カリウムを 2% 含む 0.1M 酢酸-酢酸ナトリウム緩衝溶液 1 ml で pH 3.5~3.7 とし、全量を 10 ml とした後、MIBK 10 ml で抽出する。分相後、MIBK 相をとり励起波長 $\lambda_{\text{ex}}=493\text{nm}$ 、けい光波長 $\lambda_{\text{em}}=580\text{nm}$ で $5 \mu\text{g/ml}$ のローダミン B 溶液を対照にして相対けい光強度を測定する。

4 結果及び考察

ヘキシル基を導入した Hexyl-LUMO は油溶性に富み生成したガリウム錯体は MIBK に容易に抽出され強いけい光を発する。錯体とミセルとの相互作用も大きい。MIBK 抽出法は著しく選択性が向上しているため、他種イオンの存在下での極微量定量に適している。以下、溶媒抽出けい光定量、及びミセルとの相互作用について述べる。

4.1 Hexyl-LUMO によるガリウムの溶媒抽出けい光定量

4.1.1 励起及びけい光スペクトル ガリウム-Hexyl-LUMO 錯体のけい光強度は水溶液中から有機溶媒中への抽出あるいはミセルとの相互作用により大きく増

大する。水溶液中での極大励起波長 $\lambda_{\text{ex}}=493\text{nm}$ 、極大けい光波長 $\lambda_{\text{em}}=599\text{nm}$ であるのに対して、中性界面活性剤 PGME ミセルの共存では、 $\lambda_{\text{ex}}=493\text{nm}$ 、 $\lambda_{\text{em}}=577\text{nm}$ とけい光波長の短波長シフトと約 17 倍ものけい光強度の増大がみられる。MIBK 相中においては $\lambda_{\text{ex}}=493\text{nm}$ 、 $\lambda_{\text{em}}=580\text{nm}$ であり、けい光強度は抽出前の水相中の約 25 倍にも増大する。Fig. 1 に MIBK 相中のガリウム-Hexyl-LUMO 錯体の励起けい光スペクトルを示す。

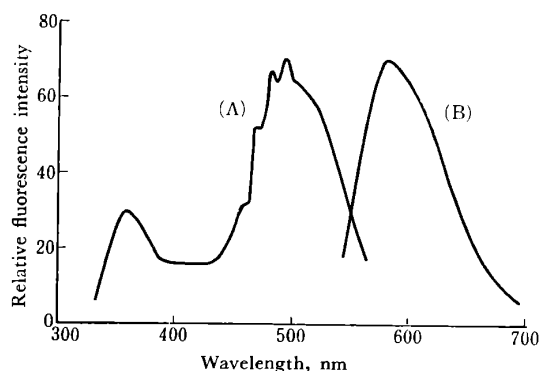


Fig. 1 Excitation (A) and emission (B) spectra of Ga(III)-Hexyl-LUMO complex in MIBK
 $\lambda_{\text{ex}}=493\text{nm}$; $\lambda_{\text{em}}=580\text{nm}$

4.1.2 抽出溶媒 ガリウムのルモガリオン錯体は pH 3~4.5 の条件で形成されるが定量的抽出溶媒としては一般的に高級アルコールが用いられており、イソプロピルエーテルや MIBK などには一部抽出されるにすぎない。ところがガリウム-Hexyl-LUMO 錯体は容易に MIBK 相に抽出することができ、そのけい光強度はカプリコートを用いてイオン対として MIBK 相中へ抽出したルモガリオン錯体より約 3 倍程度大きい。種々の溶媒によるガリウム-Hexyl-LUMO 錯体の抽出けい光強度の比較より、MIBK、*n*-デカノール、プロピレンカーボネート、などが適当であり、ベンゼン、トルエン、1, 2-ジクロロエタンなどの場合は不適である。以後の抽出操作には MIBK を使用した。

4.1.3 pH の影響 酢酸緩衝溶液と塩酸又は水酸化カリウムにより pH を調整した。Fig. 2 には錯体を MIBK に抽出した際のけい光強度に及ぼす pH の影響を、ガリウムの濃度を変えた場合について示した。いずれの場合も pH 2.7~4.0 の範囲でほぼ一定のけい光強度を与える。定量に際しては pH 3.5 付近に調節した。pH 5 付近からけい光強度の立ち上がりがみられるのは pH 調節に用いた水酸化カリウム中に混在しているアルミニウムの影響がでてくるためと考えられる。実際にア

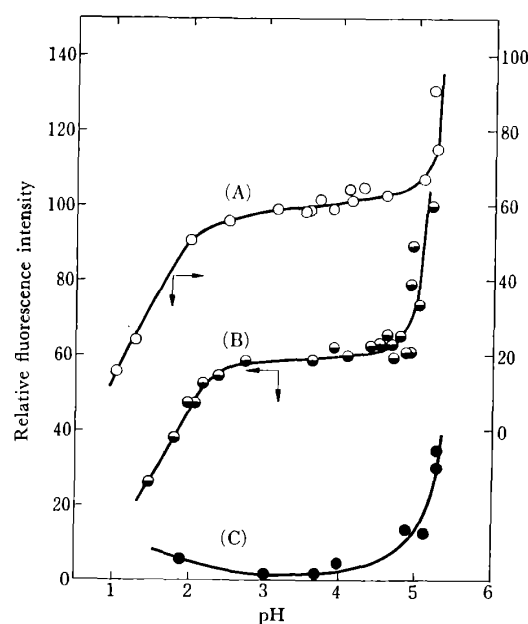


Fig. 2 pH dependence for the fluorescence intensity of extracted Ga(III)-hexyl-LUMO complex in MIBK phase

Gallium content in samples are: (A) 0.03 µg/ml, and (B) 0.23 µg/ml. Curve (C) is the reagent blank.

ルミニウムの pH 依存性を調べると pH 5.6 を極大とするけい光 pH 曲線を示す。しかしアルミニウム錯体のけい光は pH 4 以下では極端に弱くなるためガリウムの測定 pH 3.5 付近においては等モルのアルミニウムの共存も全く妨害とならないことを確かめた。

4.1.4 錯体組成 pH 3.7 における抽出錯体の組成を連続変化法, モル比法により検討した。Fig. 3 に連続変化法の結果を示す。ガリウム-Hexyl-LUMO 錯体は

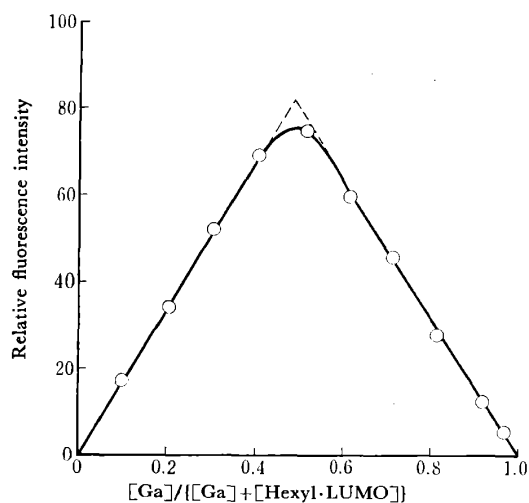


Fig. 3 Determination of composition of Ga(III)-Hexyl-LUMO complex

pH=3.7; $[Ga] + [Hexyl-LUMO] = 4.23 \times 10^{-6} M$

ルモガリオンの場合と同様に⁶⁾, 1:1 の結合比で錯形成することを示し, モル比法も又同様な結果を指示した。

4.1.5 共存イオンの影響 ガリウム濃度 75 ppb に対して, 他の金属イオンを 1000 ppb 共存させ, 3 節の定量操作法に従ってけい光強度の測定を行いその回収率を求めた。Table 1 に示すとおり, バナジウム(V) の妨害は大きい, マグネシウム(II), ニッケル(II), 鉛(II), インジウム(III), ネオジム(III), などは妨害しない。特にルモガリオン法によって定量する場合に強い消光作用を示す銅(II), 鉄(III), スズ(II), クロム(VI) の妨害が著しく軽減されこれらは同濃度程度の場合には全く影響しないことを確かめた。又, アルミニウムの妨害もないなど本法は従来法に比較して, 優れた特徴を持っている。Hexyl-LUMO を用いる場合にはガリウム, アルミニウム錯体のけい光 pH 曲線がかなり離れることや, 溶媒抽出による分離の両方の効果によって, このようなアルミニウムに対する選択性の向上がもたらされたものと考えられる。

Table 1 Effect of diverse ions†

Ions	Added as	Recovery of Ga (%)
Co ²⁺	CoSO ₄	110
Cu ²⁺	CuSO ₄	84
Mg ²⁺	MgSO ₄	104
Ni ²⁺	NiSO ₄	97
Pb ²⁺	Pb(NO ₃) ₂	99
Sn ²⁺	SnCl ₂	105
Zn ²⁺	ZnSO ₄	113
Al ³⁺	KAl(SO ₄) ₂	108
Fe ³⁺	FeCl ₃	61
In ³⁺	In(SO ₄) ₃	101
Nd ³⁺	Nd(NO ₃) ₃	100
V ⁵⁺	NH ₄ VO ₃	45
Cr ⁶⁺	K ₂ CrO ₄	101
Mo ⁶⁺	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄	86

† Each sample contained 0.753 µg of gallium in 10 ml of solution; The diverse ion of each sample was 10 µg in 10 ml of solution.

4.2 ガリウム錯体と界面活性剤ミセルとの相互作用

4.2.1 界面活性剤の効果 界面活性剤の添加量及び種類によるけい光強度の変化を Fig. 4 及び Fig. 5 に示した。配位子として Fig. 4 は Hexyl-LUMO, Fig. 5 はルモガリオンを使用した場合である。いずれの場合も中性界面活性剤 PGME の存在で大きなけい光強度の増大がみられるが, 陽イオン性界面活性剤の場合には大きな増大はみられない。又特徴的なのは, ルモガリオン錯体の場合は陰イオン性界面活性剤 DBS の添加によりむしろけい光が減少する傾向を示すのに対して Hexyl-LUMO はゆるやかに増大する傾向にある。これは長鎖アルキル基の存在により陰イオン性界面活性剤との混合

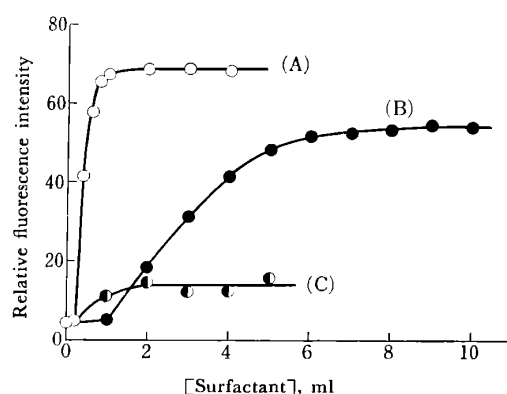


Fig. 4 Effect of the amount of surfactants on the fluorescence intensity of Ga(III)-Hexyl-LUMO complex

$\lambda_{ex}=493\text{ nm}$, $\lambda_{em}=580\text{ nm}$; $[Ga]=0.43\text{ }\mu\text{g/ml}$; (A) $[PGME]=5\%$; (B) $[DBS]=1.9\times 10^{-2}\text{ M}$; (C) $[Cetyl]=2\times 10^{-2}\text{ M}$

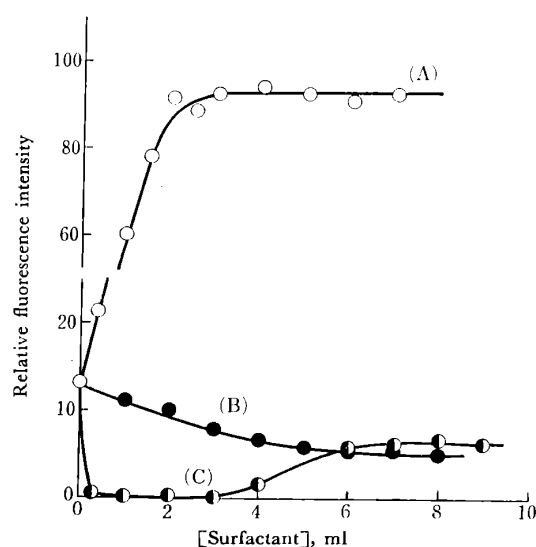


Fig. 5 Effect of the amount of surfactants on the fluorescence intensity of Ga(III)-lumogallion complex

$\lambda_{ex}=490\text{ nm}$, $\lambda_{em}=553\text{ nm}$; $[Ga]=0.66\text{ }\mu\text{g/ml}$; (A) $[PGME]=5\%$; (B) $[DBS]=1\times 10^{-2}\text{ M}$; (C) $[Zeph]=2\times 10^{-2}\text{ M}$

ミセル形成が促進されたものと考えられる。

実際のガリウムのかい光分析に際し、ミセル形成濃度以上の中性界面活性剤の添加により感度上昇が可能である。

4.2.2 かい光偏光度スペクトル かい光性錯体を偏光で励起したときに発するかい光の偏光度を測定すると、通常、かい光寿命の間に起こる回転緩和のために偏光度は小さな値を示すが粘度の高い溶媒中に溶解している場合やミセルなどに取り込まれると、かなり偏光してく

ようになる。実際にルモガリオン及び Hexyl-LUMO のガリウム錯体のかい光偏光度スペクトルを測定すると Fig. 6 に示すようになる。曲線 (A), (B) は PGME ミセル共存下での Hexyl-LUMO, ルモガリオン錯体のかい光偏光度スペクトルである。観測しているかい光と同一の遷移に基づくものとみなされる 500nm 付近の励起波長における偏光度を比較すると Hexyl-LUMO 錯体のほうが高い偏光度を示し、長鎖アルキル基の効果によってミセルへの強い取り込みが起こっていることを示している。

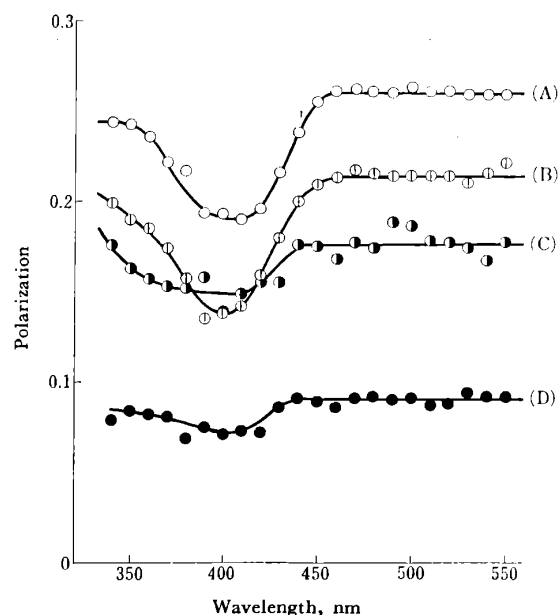


Fig. 6 Polarization spectra of gallium complexes

Curve (A) and (C) denote Hexyl-LUMO complexes; Curve (B) and (D) denote lumogallion complexes; —●—, —■— In the absence of surfactant; —○—, —□— In the presence of surfactant (PGME)

4.2.3 かい光量子収率 中性界面活性剤ミセルに取り込まれたガリウム錯体のかい光量子収率の変化を硫酸キニーネを標準として測定した。Table 2 に示すように

Table 2 Comparison of quantum efficiencies

Substances	pH	Φ
Quinine bisulfate	1.0	0.55
Fluorescein	13.0	0.90 (0.87)†
Ga(III)-Hexyl-LUMO-PGME	3.5	0.24
Ga(III)-Lumogallion-PGME	3.5	0.22
Ga(III)-Hexyl-LUMO	3.5	0.028
Ga(III)-Lumogallion	3.5	0.057

Hexyl-LUMO and PGME denote a hexyl-lumogallion and a polyethylene glycol monolauryl ether, respectively. Quinine bisulfate was used as a standard of quantum efficiency of 0.55 ($\lambda_{ex}=366\text{ nm}$); † W. R. Dawson, M. W. Windsor: *J. Phys. Chem.*, **72**, 3251 (1968)

水溶液中ではガリウム-Hexyl-LUMO 錯体はルモガリオン錯体よりも小さな値であるが, PGME 中では逆にやや大きな値となる. 界面活性剤ミセル共存によるこのようなけい光強度の増大は, 錯体がミセルに取り込まれることによって, 分子内振動, 回転あるいは極性溶媒との相互作用などによる無ふく射過程が抑制されるためであると理解される.

5 結 語

ガリウムのけい光定量試薬として有用なルモガリオンに長鎖アルキル基の導入を試み 5-ヘキシルルモガリオン (Hexyl-LUMO) を合成した. Hexyl-LUMO はそれ自身, 界面活性能を有し, 錯体とミセルとの相互作用も強いことを見いだした. 更に長鎖アルキル基の導入は困難であった *o*, *p*, *o'*-トリヒドロキシアゾ化合物の溶媒抽出を容易にし, MIBK 抽出法によれば高感度, 高選択的なガリウムのけい光定量が可能である.

終わりに, 界面活性染料に関する資料を頂いた茨城大学理学部 依田 修教授に感謝致します.

文 献

- 1) N. Ishibashi, K. Kina : *Anal. Lett.*, **5** 637 (1972).
- 2) K. Kina, N. Ishibashi : *Microchem. J.*, **19**, 26 (1974).
- 3) 喜納兼勇, 田村加代子, 石橋信彦 : 本誌, **23**, 1404 (1974).
- 4) A.M. Lukin, E. A. Bozhevol'nov : *Zh. Anal. Khim.*, **15**, 43 (1960); *Anal. Abstr.*, **7**, 416 (1960).
- 5) A. K. Babko, A. I. Volka, T. E. Get'man : *Ukr. Khim. Zhr.*, **35**, 69 (1969); *Anal. Abstr.*, **18**, 3021 (1970).
- 6) 西川泰治, 平木敬三, 森重清利, 重松恒信 : 本誌, **16**, 692 (1967).
- 7) Liam-Ngog-Thu : *Zh. Anal. Khim.*, **22**, 636 (1967); *Anal. Abstr.*, **15**, 7626 (1968).
- 8) R. A. Zweidinger, L. Barnett, C. G. Pitt : *Anal. Chem.*, **45**, 1563 (1973).
- 9) O. Yoda : "Memoirs of the Musashi University" (Supplement), **5**, 1 (1957).
- 10) 重松恒信, 西川泰治 : "新しい有機試薬・有機反応と微量分析", p. 44 (1975). (化学同人).

- 11) ユ・ア・ゾロトフ著, 田中元治, 中須賀徳行, 小島 功, 舟橋重信訳: "キレート化合物の抽出", p. 197 (1972), (培風館).

☆

A new azo-compound containing a long alkyl chain for fluorometric determination of trace gallium. Kenyu KINA, Katsuhiko SHIRAISHI and Nobuhiko ISHIBASHI (Department of Applied Analytical Chemistry, Faculty of Engineering Kyushu University, 6-10-1, Hakozaki, Higashi-ku, Fukuoka-shi, Fukuoka)

A new lumogallion-analogue containing hexyl group as a long alkyl chain has been synthesized. The hexyl-lumogallion (Hexyl-LUMO) formed a fluorescent one to one chelate complex with gallium(III) in the optimum pH range of 2.7 to 4.0. The Ga(III)-Hexyl-LUMO complex was easily extracted into methyl isobutyl ketone (MIBK). The complex had its maximum emission at 580 nm with an excitation at 493 nm. The fluorescence intensity of the complex in the extract was 25 times stronger than that in aqueous solution when equal volumes of MIBK and the aqueous solution were used.

The concentration of ppb level of gallium was able to be easily determined. The quenching effect of the transition metal was markedly reduced by the MIBK extraction method.

The fluorescence intensity of the chelate complex was sensitized with nonionic or anionic surfactant micelle. The nonionic surfactant was more useful for the sensitivity enhancement of the fluorometric analysis of gallium. It was confirmed that the fluorescence quantum efficiency of the complex increased about 10-fold in the presence of polyethylene glycol monolauryl ether, a nonionic surfactant. The fluorescence polarization spectra suggested that the presence of the hexyl group caused a strong binding of the complex to micelle.

(Received Apr. 9, 1976)

Keywords

Fluorometric determination

Gallium

Lumogallion-analogous reagent

Methyl isobutyl ketone extraction

Surfactants