

共鳴ラマン法による芳香族アミンの微量分析

池田 憲一* , 樋口 精一郎[®] , 田中 誠之**

(1981 年 5 月 29 日受理)

共鳴ラマン効果を利用した芳香族アミンの検出法について検討した。芳香族アミン類は通常、可視領域に吸収帯を持たないので共鳴ラマン法を適用するためにはあらかじめ着色誘導体に導かなければならない。本研究では 3 種類の誘導化反応 (i. *p*-ジメチルシンナムアルデヒドを用いる方法, ii. 1-ナフトールを用いる方法, iii. 2-ナフトールを用いる方法) を試みたところ, ii. の方法がけい光による妨害が少なく最も良好な結果を得た。この方法によると, 0.005 ppm のアニリンが検出でき, 検量線は (0.01~1.0) ppm の領域で直線性を示す。又 0.1 ppm のアニリン, トルイジン, クロロアニリン, ニトロアニリンの識別が可能である。

1 緒 言

共鳴ラマン法は高感度で, かつ振動スペクトル法固有の優れた選択性を持つ新しい微量分析法として注目されている。しかし, 共鳴ラマン法が適用できる物質は励起レーザー光波長の領域に吸収帯を持つものに限定されるという制約があり, 水中の工業用色素類¹⁾ や, 食物中の β -カロチン²⁾ の検出などの限定された系にしか利用できないのが実情である。そこで, 無色の物質を着色誘導体化して, この適用範囲を広げようとする試みがサルファ剤³⁾, アミド類⁴⁾, フェノール類⁵⁾ などについてなされている。しかし, その場合観測されるスペクトルは主に発色団に由来するものになり, 元の物質による差異が認められなくなるといった問題も生じている。

本研究では, 腐敗物の悪臭成分であり発がん性⁶⁾ などの点からより高感度, 高選択的な検出が要求されている芳香族アミン類について, 発色方法の検討をも含めて共鳴ラマン法による微量分析を試みた。

2 実 験

2.1 装置及び測定法

可視吸収スペクトルは, 日立 340 型自記分光光度計を用いて測定した。共鳴ラマンスペクトルは, 日本分光製 J-800 型レーザーラマン分光光度計を用いて測定し

た。検出器としては, RCA-8850 型光電子増倍管を使用した。分光学的スリット幅はラマンシフト 1500 cm^{-1} の絶対波数で 5 cm^{-1} になる様に設定し, すべてのスペクトルに付属のマイクロコンピュータを用いてスムージング操作を 1 回行った。ラマン励起光源には Spectra-Physics 社製 164 型アルゴンイオンレーザーの 2 本の発振線 (488.0 nm , 514.5 nm) を出力 400 mW で使用した。又, レーザー光照射による試料の分解, 沸騰を避けるため, 容量 0.3 ml の回転セル (2500 rpm) を用いた。

2.2 試薬及び発色反応

芳香族アミン類, *p*-ジメチルアミノシンナムアルデヒド (*p*-DAC), 1-ナフトール, 2-ナフトールは市販の特級試薬を使用した。標準試料は, 塩酸 (0.2 M) 100 ml に 100 mg のアミンを溶かし順次水で希釈し必要な濃度に調製した。

p-DAC を用いる発色法は, Qureshi らの報告⁷⁾ に従って行った。この反応の機構及び着色生成物の構造はまだ明らかにされていないが, アゾ化合物に類似した構造を持つ物質が生成するのではないかと推測されている⁸⁾。ナフトールを用いる発色法は, El-Dib の報告⁹⁾ に準じて次のように行った。40 ml の試料 {(5~100) μg のアミンを含む} に塩酸 (2 M) 2 ml , 亜硝酸ナトリウム (2%) 1 ml を加え良く振とうする。15 分後に 1-ナフトール (又は 2-ナフトール) (0.1%) 1 ml , 水酸化ナトリウム (3 M) 2 ml を加えて反応させる。反応は $100\text{ }\mu\text{g}$ までのアミンに対して定量的に進みベールの法則が

* 横浜国立大学工学部工業分析化学教室: 神奈川県横浜市保土ヶ谷区常盤台 156

** 東京大学工学部工業化学科: 東京都文京区本郷 7-3-1

成り立つと El-Dib は報告している。又、生成したアゾ色素は 24 時間以上安定であった。

3 結果と考察

3.1 発色方法による共鳴ラマンスペクトルの比較

Table 1 にアニリンを例に取り 3 種類の発色方法を用いたときの 488.0 nm 励起による共鳴ラマンスペクトルの比較をまとめた。

Table 1 Comparison of the three derivatization methods for aniline

Method	Absorbance maximum	Fluorescence intensity	Raman intensity	Applicable aromatic amine
A	528 nm	very strong	—	primary and secondary
B	495 nm	very weak	strong	primary
C	500 nm	weak	medium	primary

A : *p*-DAC derivatization method; B : 1-Naphthol derivatization method; C : 2-Naphthol derivatization method

アニリン誘導体の吸収極大波長はいずれの場合も 500 nm 付近にあり、共鳴条件を満たしている。又、レーザー光照射に対しても十分安定であった。しかし、*p*-DAC 法による誘導体は非常に強いけい光が生じ、共鳴ラマンスペクトルを得ることはできなかった。514.5 nm の発振線を励起光源としても、同様にけい光による妨害が大きくスペクトルを得ることはできなかった。1-ナフトール、2-ナフトール法による誘導体は、けい光による妨害が少なく良好なスペクトルを得ることができた。しかし水の ν_2 (1640 cm^{-1}) と相対強度を比較すると、1-ナフトール法による誘導体のほうが 5 倍以上大きかった。

以上のことから、1-ナフトール法による誘導体化が最も適当であることが分かったので、以下の測定はこの方法を用いて行った。

3.2 発色誘導体の可視吸収スペクトル

1-ナフトール法による芳香族アミン類誘導体の吸収スペクトルを Fig. 1 に示した。吸収極大は *p*-ニトロアニリンを除いてほぼ 500 nm 付近にある。吸収極大の一致は吸光光度法による各アミンの同定を困難にしているが、共鳴ラマン法においては同一波長の励起光が使用できるので都合が良い。各アミン誘導体に対して、これらの吸収帯のモル吸光係数は 10^4 程度であり、 $\pi \rightarrow \pi^*$ 電子遷移によるものと考えられる。

3.3 定性分析

Fig. 2 に 488.0 nm 励起による各種芳香族アミン誘

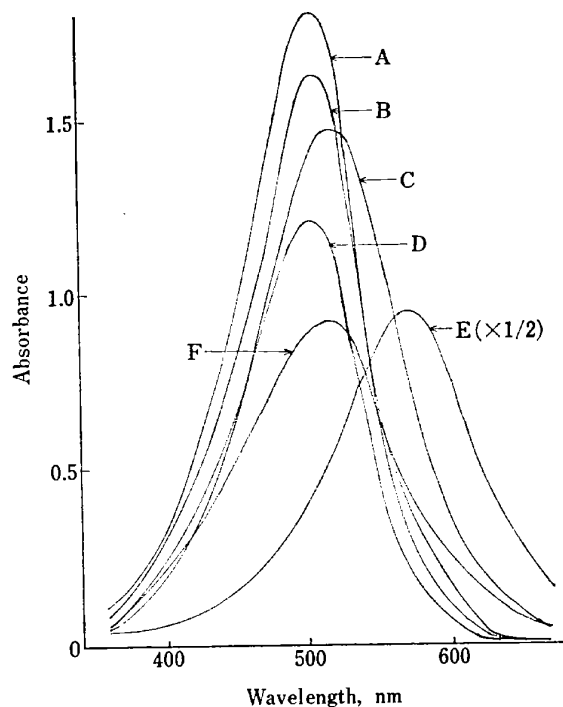


Fig. 1 The electronic absorption spectra of aromatic amines after derivatizing by 1-naphthol method

A : Aniline; B : *p*-Chloroaniline; C : *o*-Nitroaniline; D : *m*-Toluidine; E : *p*-Nitroaniline; F : 1-Naphthylamine

導体の共鳴ラマンスペクトルを示した。どの誘導体にも (1000~1500) cm^{-1} にかけて似たパターンのラマンバンドが観測される。しかし、スペクトルパターンから十分各アミンの同定が可能である。一般にスペクトルパターンの類似性は、誘導体を用いた共鳴ラマン法において常に問題となる。すなわち、共鳴効果を受ける振動モードは共鳴させている電子吸収帯に対応する電子励起状態の変形と同じ方向のものに限られているので、有機化合物で通常利用される $\pi \rightarrow \pi^*$ 吸収帯では共役系に関与している分子骨格の振動が主に共鳴効果を示す。そのため、共役系にあまり関与していない部分の構造しか異ならない化合物を共鳴ラマンスペクトルから識別するのは困難である。本研究で用いた 1-ナフトールによる芳香族アミン誘導体では、ベンゼン環に直接置換基 ($-\text{CH}_3$, $-\text{Cl}$, $-\text{NO}_2$) が結合しているため、その影響が共役系に及びスペクトルパターンの差異となって現れている。

Table 2 に (1000~1500) cm^{-1} 領域で観測される主なラマンバンドの波数を記載した。1140 cm^{-1} , 1315 cm^{-1} , 1380 cm^{-1} 付近に共通して強いバンドが観測される。これらの帰属ははっきりしないが、それぞれ主に C-N 伸縮、環伸縮、及び N=N 伸縮振動によるものと考えられる¹⁰⁾。(1140~1315) cm^{-1} にかけて更に (3~4) 本の

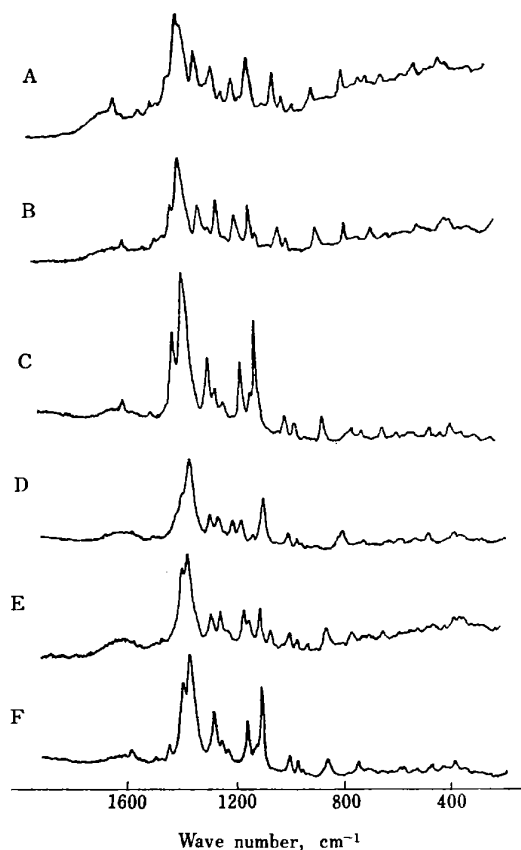


Fig. 2 The resonance Raman spectra of 3 ppm aromatic amines after derivatizing them to azo dyes

A: *o*-Nitroaniline; B: *o*-Chloroaniline; C: *p*-Toluidine; D: *m*-Toluidine; E: *o*-Toluidine; F: Aniline

Table 2 Raman bands of aromatic amines after derivatizing by 1-naphthol method

Amine	Wave number (cm ⁻¹)						
Aniline	1141	1189	1256	1280	1306	1385	1409
<i>o</i> -Toluidine	1147	1201	1254	1282	1315	1390	1409
<i>m</i> -Toluidine	1131	1207	1259	1286	1313	1384	1405
<i>p</i> -Toluidine	1142	1195	1256	1283	1303	1383	1421
<i>o</i> -Chloroaniline	1146	1193	1253	1283	1316	1378	1406
<i>m</i> -Chloroaniline	1146	1189	1253	1285	1319	1382	1407
<i>p</i> -Chloroaniline	1141	1192	1252	1295	1311	1377	1421
<i>o</i> -Nitroaniline	1140	1194	1264	—	1322	1381	1411
<i>m</i> -Nitroaniline	1146	1191	1256	1276	1318	1381	1409
<i>p</i> -Nitroaniline	1135	1195	1228	1285	1318	1377	1427
1-Naphthylamine	1145	1197	1252	1285	1310	1381	1410

バンドが観測される。これらのバンドは $\pm 8 \text{ cm}^{-1}$ の範囲内で一致している。特に置換基の種類よりも位置によるスペクトルパターンの類似性が強く、*o*-トルイジンでは *o*-クロロアニリン、*o*-ニトロアニリンと良く似たパターンを示す。

514.5 nm の励起光を用いても同程度の強度のスペクトルが得られたが、アニリン、トルイジンにおいてけい光による妨害が若干見られた。488.0 nm 励起ではこのけい光が高ラマンシフト側になるので、妨害を受けずにより S/N の良いスペクトルが得られる。

3.4 定量分析

Table 3 に各アミンの吸光光度法と共鳴ラマン法による検出限界を記載した。吸光光度法による検出限界は El-Dib が報告したモル吸光係数⁹⁾から、10 mm のセルを用いて吸光度の検出限界 0.005 を条件として求めた。共鳴ラマン法は S/N=5 を検出限界とした。共鳴ラマン法ではベースラインの傾きが検出限界を支配する要因の一つになっている。つまり低濃度での測定では、検知器の感度曲線、けい光、試薬や溶媒によるバックグラウンドなどの影響が顕著になり（感度を上げるため）、ベースラインの傾きが大きくなり目的とする試量のバンドが識別され難くなる (Fig. 3)。検出限界は吸光光度法に比べて 5 倍程度改善されるが、吸光光度法においても 50 mm のセルを用いた場合は同程度になる。又、検出限界の 10 倍濃度でスペクトルパターンから各アミンを区別することができる (Fig. 3)。

Table 3 Detection limit

Amine	Absorbance maximum (nm)	Detection limit ⁹⁾ (spectrophotometry)	Detection limit (resonance Raman)
Aniline	494	18 ppb	5 ppb
<i>o</i> -Toluidine	482	33	8
<i>m</i> -Toluidine	496	30	6
<i>p</i> -Toluidine	494	16	4
<i>o</i> -Chloroaniline	504	24	8
<i>m</i> -Chloroaniline	503	22	4
<i>p</i> -Chloroaniline	501	23	5
<i>o</i> -Nitroaniline	520	26	8
<i>m</i> -Nitroaniline	512	22	4
<i>p</i> -Nitroaniline	570	17	16
1-Naphthylamine	508	39	16

Fig. 4 は 1385 cm^{-1} のバンドのアニリンの検量線である。前述したように低濃度になると、ベースラインを広い波数領域にわたって直線で近似できなくなる。そこで (0.1~1.0) ppm では (1100~1800) cm^{-1} を直線で結びベースラインとしたが、(0.01~0.1) ppm では (1325~1475) cm^{-1} , (1475~1800) cm^{-1} を直線で結びそれぞれアニリンと水のベースラインとした。相対強度は各濃度における 1385 cm^{-1} のバンドと水の ν_2 の高さの比から求めた。回帰直線の方程式はそれぞれ

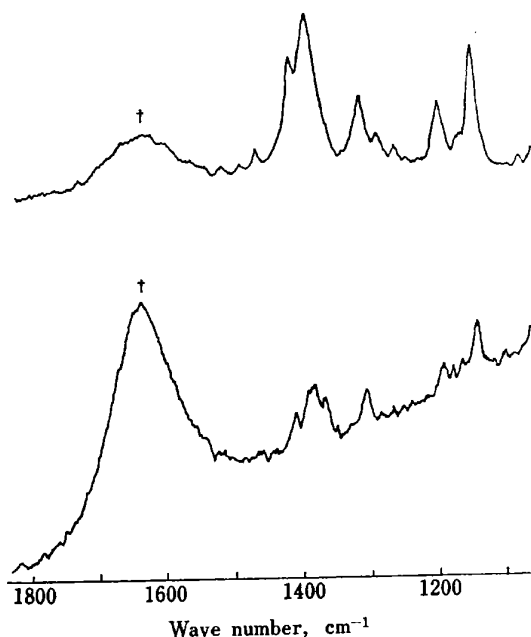


Fig. 3 The resonance Raman spectra of 0.5 ppm (top) and 0.05 ppm (bottom) aniline solutions after derivatizing them to azo dyes

The bands marked with asterisk are ν_2 of water.

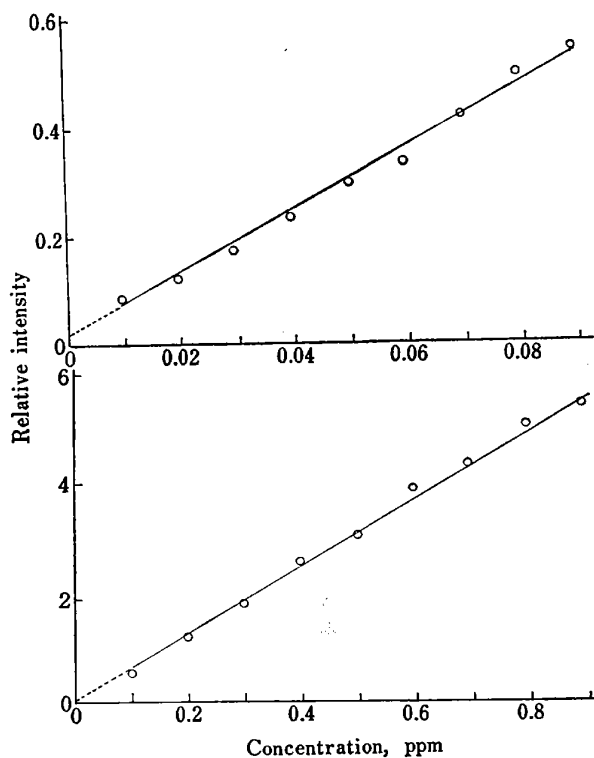


Fig. 4 The calibration curves for aniline

The band at 1385 cm^{-1} of the derivative by 1-naphthol method is used as the key band. The longitudinal axes show the relative Raman intensities of the key band against the ν_2 of water.

$$y_1 = 5.7x_1 + 0.02\{(0.01 \sim 0.1)\text{ ppm}\}$$

$$y_2 = 6.1x_1 + 0.03\{(0.1 \sim 1.0)\text{ ppm}\}$$

となった。傾きの標準偏差はそれぞれ、 $\sigma_1 = 0.34$, $\sigma_2 = 0.17$ である。切片は 1365 cm^{-1} に空試験 (1-ナフトール) の弱いバンドがあるために生ずるもので、 y_1 に対しては無視できない。又、二直線の傾きが異なっているのはベースラインの引き方を変えているからである。通常、共鳴ラマンの測定強度は励起光及び散乱光の吸収があるため濃度に比例しない。参照バンドとの相対強度を取った場合でも測定バンドと参照バンドとの吸光度が異なるため、一般には濃度に比例しない。しかし本実験の場合、両バンドの吸光度差が小さいので検量線は直線性を示している。すなわち、 1640 cm^{-1} (水の ν_2) と 1385 cm^{-1} (測定バンド) のラマン散乱強度を I_1 , I_2 , 試料層を透過して観測される強度を I_1' , I_2' , それぞれのラマン光に対する吸光係数を ϵ_1 , ϵ_2 とすれば、

$$\begin{aligned} I_2'/I_1' &\propto I_2/I_1 \exp\{-k(\epsilon_2 - \epsilon_1)l\} \\ &= I_2/I_1 \exp(-k\Delta\epsilon l) \end{aligned}$$

ただし、 c は試料濃度、 l はラマン光の通過する試料層の厚さ、 $k = \log_e 10 = 2.303$, $\Delta\epsilon = \epsilon_2 - \epsilon_1$ である。ここで通常の測定条件として、 $c = 1 \times 10^{-5}\text{ M}$, $l = 2 \times 10^{-1}\text{ cm}$ を代入すると

$$I_2'/I_1' \propto I_2/I_1 \exp(-4.6 \times 10^{-4} \Delta\epsilon)$$

本実験では $\Delta\epsilon = 3 \times 10^3$ となるから

$$I_2'/I_1' \propto I_2/I_1 \exp(-1.2 \times 10^{-2}) \approx I_2/I_1$$

となり再吸収の影響はほとんど無視できる。測定誤差の大きな要因であるレーザー出力の変動、セル及び光軸の調整の差も参照バンドとの相対強度を取れば大部分除くことができる。しかし、参照バンドとの強度比があまりに大きくなると読み取り誤差が大きくなる。この検量線を用いて、 $(0.01 \sim 1.0)\text{ ppm}$ のアニリンを 10% 以内の誤差で定量することができる。

3.5 二成分系の同時測定

強いバンドはほとんど重なってしまうので多成分系の同時定量はなかなか困難であった。しかし、*o*-ニトロアニリンと *m*-ニトロアニリンではそれぞれ 911 cm^{-1} , 864 cm^{-1} に重ならないバンドがあるのでこれを利用して同時測定を試みた。Fig. 5 はそれぞれ 0.25 ppm, 1.0 ppm などの濃度の混合物のスペクトルである。両成分のバンドが観測できる。しかし、他の成分による吸収の補正が必要となるので、ともに未知濃度である二成分

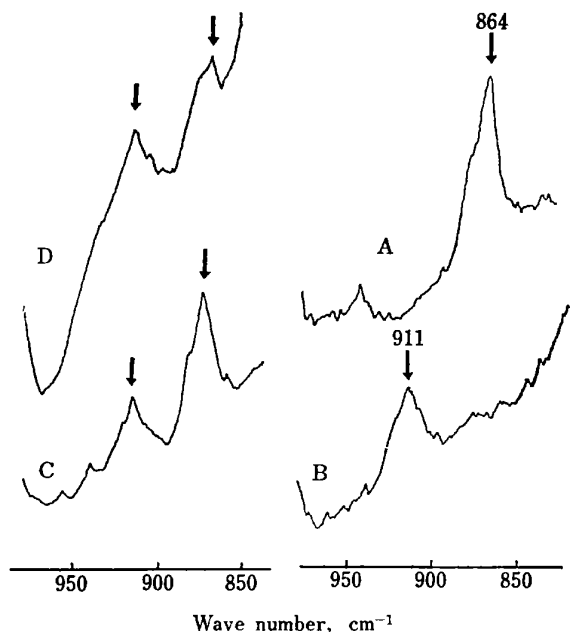


Fig. 5 The resonance Raman spectra

A: 1 ppm *m*-nitroaniline, B: 1 ppm *o*-nitroaniline, C: 1 ppm *o*-nitroaniline and *m*-nitroaniline, D: 0.25 ppm *o*-nitroaniline and *m*-nitroaniline solutions after the derivatization

の定量は困難であった⁴⁾。

(1981年4月3日, 日本化学
会春季年会において講演)

文 献

- 1) L. V. Haverbeke, P. F. Lynch, C. W. Brown : *Anal. Chem.*, **50**, 315 (1978).
- 2) G. Forrest, G. Vilcins : *J. Agric. Food Chem.*, **27**, 609 (1979).
- 3) S. Sato, S. Higuchi, S. Tanaka : *Anal. Chim. Acta*, **120**, 209 (1980).
- 4) S. Higuchi, O. Aiko, S. Tanaka : *Anal. Chim. Acta*, **116**, 1 (1980).
- 5) L. V. Haverbeke, M. A. Herman : *Anal. Chem.*, **51**, 932 (1979).
- 6) D. B. Clayson : *Brit. Med. Bull.*, **20**, 115 (1964).
- 7) M. Qureshi, I. A. Khan : *Anal. Chim. Acta*, **86**, 309 (1976).
- 8) M. Qureshi, S. Z. Qureshi, H. S. Rathore, A. Mohammad : *J. Phys. Chem.*, **79**, 116 (1975).

- 9) M. A. El-Dib : *J. Ass. Off. Anal. Chem.*, **54**, 1383 (1971).
- 10) H. Hacker : *Spectrochim. Acta*, **21**, 1989 (1965).

☆

Determination of trace amount of aromatic amines by resonance Raman spectrometry. Ken-ichi IKEDA*, Seiichiro HIGUCHI and Shigeyuki TANAKA** (*Laboratory for Industrial Analytical Chemistry, Faculty of Engineering, Yokohama National University, 156, Tokiwadai, Hodogaya-ku, Yokohama-shi, Kanagawa; **Department of Industrial Chemistry, Faculty of Engineering, University of Tokyo, 7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo)

The resonance Raman effect was applied to the determination of aromatic amines. The aromatic amines must be derivatized beforehand to dye compounds which fulfil the resonance Raman condition, because the amines hardly have the absorption bands in the visible region. Three derivatizing methods (*p*-dimethylaminocinnamaldehyde method, 1-naphthol method and 2-naphthol method) were examined to make dye compounds with the absorption bands at about 500 nm. The *p*-dimethylaminocinnamaldehyde method was unsuitable, as the derivatives produced by the method emitted the strong fluorescence, when illuminated by the laser light. The 1-naphthol method gave the best resonance Raman spectra. Although the aromatic amines (aniline, *o*-toluidine, *m*-toluidine, *p*-toluidine, *o*-chloroaniline, *m*-chloroaniline, *p*-chloroaniline, *o*-nitroaniline, *m*-nitroaniline, *p*-nitroaniline and 1-naphthylamine), after derivatized by the 1-naphthol method, give in general similar resonance Raman spectra, they can be readily distinguished even at a low concentration level of 100 ppb by comparing the patterns of the spectra in (1000~1500)cm⁻¹ region. The calibration curve of aniline is linear from 0.01 ppm to 1.0 ppm, when the relative intensities of the key band (1385 cm⁻¹) to ν_2 of H₂O (1640 cm⁻¹) are used. The detection limit is (4~16)ppb (SN=5), about 5 times better than that of the colorimetric method (cell width 10 mm, detection limit of absorbance 0.005). The simultaneous determination of *o*-nitroaniline and *m*-nitroaniline was examined and two components were detected at a level down to 0.25 ppm.

(Received May 29, 1981)

Keyword phrases

determination of amine by resonance Raman; determination of aromatic amine; resonance Raman effect; aromatic amine; Raman.