

報 文

コバルト接触分析試薬としての 1-アミノ-8-ナフトール-3,6-ジスルホン酸モノアゾ化合物の合成と感度に及ぼす置換基の効果の検討

渡辺 邦洋[®], 堤 あかね, 小浦 延幸*

(1989年12月28日受理)

コバルトの接触分析試薬の設計を目的として, 1-アミノ-8-ナフトール-3,6-ジスルホン酸モノアゾ色素を合成し, 色素の置換基と接触分析試薬としての可能性を検討した. 各色素の退色性はほぼ Hammett 則に従い, 電子供与性の強い置換基を持つ色素ほど退色速度は大きかった. このことから, アゾ基窒素上の電子密度を増大させる置換基を持つ色素ほど, 過酸化水素より生ずるラジカルによりアゾ基の攻撃を受けて退色しやすく, コバルトの接触分析試薬として有用であることが明らかとなった. 更に以上の検討の結果得られた色素 1-amino-8-hydroxy-7-(*p*-hydroxyphenylazo)-3,6-naphthalenedisulfonic acid を用いて, コバルトの最適分析条件を検討したところ, 検量線はコバルト濃度 0~1.2 ppb の範囲で直線となり, 1 ppb における再現性は相対標準偏差 6.9% ($n=7$) と良好であった.

1 緒 言

接触分析法は, 触媒が化学量論的に働くのではなく, 循環再生して主反応にあずかるために, 高感度定量を行うことができ, 超微量分析法の有力な手段の一つである¹⁾. しかし, 接触反応は反応機構が複雑で, 新しい接触分析法を計画的に見いだすことは困難であり, むしろ偶然に発見されることが多い²⁾.

コバルトの接触分析法として, 著者らはアミドブラック 10B {1-amino-8-hydroxy-2-(*p*-nitrophenylazo)-7-(phenylazo)-3,6-naphthalenedisulfonic acid, AB 10} のコバルトによる退色反応を利用した方法を報告したが³⁾, その他, タイロン⁴⁾, スチルバゾ⁵⁾, SPADNS {2-(*p*-sulfophenylazo)-1,8-dihydroxynaphthalene-3,6-disulfonic acid} ⁶⁾, ピロガロールレッド⁷⁾を用いる方法などがあり, 数 ppb レベル以下のコバルト定量法が報告されている. しかし, その接触分析法に利用される有機試薬の設計について述べられているものはほとんど見られない. もし有機試薬の計画的な設計が可能となれば, 新しい超微量分析法開発の可能性が期待される. そこで著者らは, AB10 類似 1-アミノ-8-ナフトール-3,6-ジスルホン酸 (H 酸) モノアゾ化合物についてその置換基と接触分析試薬としての

可能性について検討した. 更に, その検討の結果得られた試薬 1-amino-8-hydroxy-7-(*p*-hydroxyphenylazo)-3,6-naphthalenedisulfonic acid (*p*-OH) を用いて, コバルトの定量条件の詳細な検討を行った.

2 実 験

2.1 試 薬

コバルト標準溶液は原子吸光用標準溶液 (1000 ppm, 和光純薬工業製) を使用時に蒸留水で適宜希釈して用いた.

過酸化水素水は三菱瓦斯化学製特級過酸化水素 (31%) を蒸留水で 6.2% に希釈したものを使用した.

AB10 は, 和光純薬工業製 AB10 をそのまま使用し, H 酸モノアゾ色素は 2.3 に示す合成法に従って合成したものを精製して用いた.

その他の試薬はすべて特級試薬を使用した.

2.2 装 置

分光検出器は相馬光学製波長可変紫外可視分光検出器 S-370A 型, 吸収スペクトルの測定は島津自記分光光度計 UV-200S を使用し, チューブポンプは東京理化学工業製マイクロチューブポンプ MP-32 型を使用した. 又, レコーダーには日立 056 形卓上記録計を用い, pH 測定には東亜電波工業 HM-20E 型 pH メーターを使用した.

* 東京理科大学理工学部工業化学科: 278 千葉県野田市山崎 2641

AB10 の退色生成物の確認は HPLC で行い、カラムは Develosil ODS-5、高速液体クロマトグラフは東京理化学製 PLC-10 を用いた。

2・3 アゾ色素の合成

H 酸モノアゾ色素は、それぞれ常法に準じて芳香族第一級アミンをジアゾ化後、H 酸にカップリングさせて合成した。この合成物を Nettleton らの方法⁸⁾に従って、塩酸水溶液から沈殿させて精製し、分析に使用した。

2・4 操作

2・4・1 H 酸モノアゾ色素を用いる基本操作 各色素の退色性は、コバルト、色素、過酸化水素を含む溶液 50 ml を 100 ml ビーカーにとり、恒温槽中磁気かき混ぜ機でかき混ぜ、30°C 恒温とした。この溶液をチューブポンプで流量 2.5 ml/min となるように検出器を通して循環させ、紙送り速度 10 mm/min でレコーダーに記録してベースラインの安定したことを確認した。これに分注器（紫田マクロピペット）を用いて各種濃度の水酸化ナトリウム溶液 2 ml を添加し、溶液をアルカリ性として色素を退色させ、このときの吸光度の経時変化をレコーダーに記録させた。この記録紙上から反応開始 1 分後の吸光度 A_1 、6 分後の吸光度 A_6 を読み取り、その比の対数 $\ln(A_1/A_6)$ を求めた。

2・4・2 p-OH によるコバルトの定量 p-OH によるコバルトの分析操作は、60 ng 以下のコバルトを含む試料溶液に、 3.5×10^{-4} M p-OH 溶液 5 ml、0.1 M タイロン溶液 1.5 ml、0.18 M Na_2CO_3 -0.02 M NaHCO_3 緩衝溶液 (pH 10.5) 10 ml を加え、その pH を水酸化ナトリウム及び塩酸で調整した後、正確に 50 ml とした。この溶液を先の方法と同様にポンプで検出器を通して循環させ、波長 600 nm における吸光度の安定を待って、6.2% 過酸化水素溶液 2 ml を添加することによって色素を退色させた。これ以降は 2・4・1 の操作と同様である。

3 結果及び考察

3・1 コバルト及び過酸化水素による AB10 退色生成物の推定

接触分析において、多くの触媒反応が用いられており、触媒反応のメカニズムの知識は、新しい触媒反応の開発や更に高感度な試薬の改良にとり有用である。アゾ色素の新規な接触分析試薬の設計のためには、その色素の退色メカニズムを調べることが、適切なアプローチの

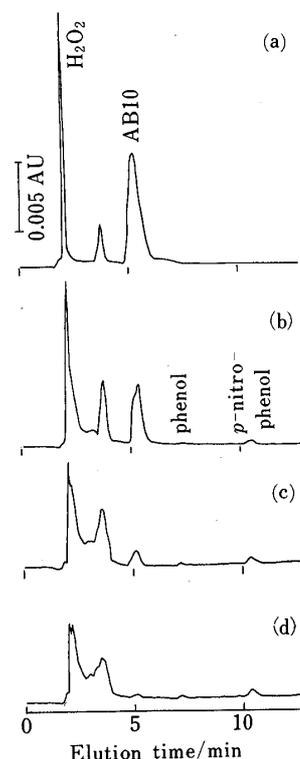
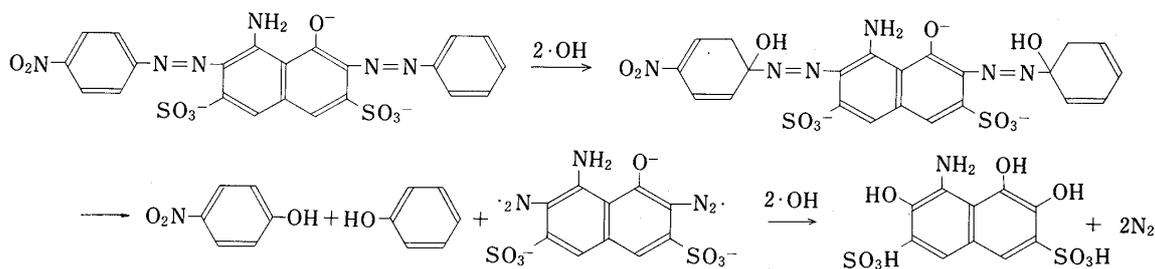


Fig. 1 HPLC chromatograms of AB10 and its color-fading products with cobalt

Color-fading conditions — AB10: 1.5×10^{-4} M; Co: 30 ppb; H_2O_2 : 0.2%; pH 12; Temperature: 30°C; Standing time: (a) 0 h, (b) 5 h, (c) 4 d, (d) 6 d. HPLC conditions — Column: Develosil ODS-5 (4.6 mm i.d. \times 15 cm); Mobile phase: methanol-water (40:60, v/v); Flow rate: 1 ml/min; Detection: UV 280 nm; Injection volume: 80 μ l

一つである。そこで、まず AB10 を用いてコバルト、過酸化水素による退色生成物を確認し、その退色機構を推定した。

AB10 1.5×10^{-4} M をコバルト 30 ppb、過酸化水素 0.2%、pH 12、30°C の条件で退色させ、その溶液を HPLC で分析した。クロマトグラムを Fig. 1 に示す。AB10 及び過酸化水素は時間の経過と共に分解し、減少していることが明らかである。代わりにフェノール及び p-ニトロフェノールの生成が確認された。これらは、AB10 の二つのアゾ基が脱離し、それぞれに水酸基が結合した形の化合物である。一方過酸化水素はコバルトと反応してヒドロキシルラジカル、あるいは高 pH 領域で生成するヒドロペルオキシラジカルの存在により、ヒドロペルオキシラジカルを生成することが知られて



Reaction scheme 1

いる³⁾⁹⁾. コバルトあるいは過酸化水素のどちらが存在しなくても AB10 は退色しないことから, これらのラジカルが AB10 のアゾ基を攻撃, 分解して AB10 を退色させ, 最終的にヒドロキシルラジカルの結合したフェノール, *p*-ニトロフェノールを与えたものと予想される. 1-アリアルアゾ-2-ナフトール系染料の光退色のメカニズムが報告されており¹⁰⁾, 攻撃種がこの場合には一重項酸素, AB10 の場合にはヒドロキシルラジカルあるいはヒドロペルオキシラジカルという差はあるが, どちらも親電子性の攻撃種であることから, AB10 の退色もスキーム 1 に示す同様のメカニズムと考えると差し支えないものと思われる. 又, 色調は青色から赤色, そして最終的には黄色に変化するので, AB10 の二つのアゾ基のうち, いずれか一方が先に攻撃を受けて分解し, 分解途中でモノアゾ色素が生成していると推定される. 又, アゾ基の分解によりアゾ基窒素は N_2 として発生し, H 酸部分はアゾ基の結合していた 2- 及び 7-位に水酸基の結合した化合物が生成すると予想されるが, ここでは確認できなかった.

3・2 コバルト及び過酸化水素による H 酸モノアゾ色素の退色性

3・1 の退色メカニズムの推定によると, ヒドロキシルラジカルは親電子性の攻撃種であるので, 炭素-窒素上の π 電子密度が高くなる構造を持つ色素ほどラジカルの攻撃を受けやすく, 従って退色速度は大きくなり, より高感度な接触分析試薬となると考えられる. このことを明らかにするため, 炭素-窒素上の π 電子密度を増加させると考えられる電子供与性基, 逆に電子密度を減少させると考えられる吸引基を導入した簡単な H 酸モノアゾ色素 (Table 1) を合成し, 各々の色素の退色性を調べた. その結果を Table 1 に示す. Table 1 の $\ln(A_1/A_6)$ の値は, pH を変化させて操作を行い, 各色素で得られた最大値を示している. 無置換体より高い値を

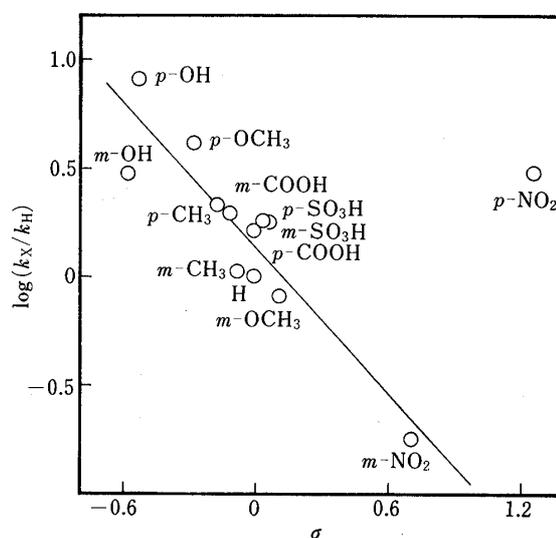


Fig. 2 Relationship between the $\log(k_X/k_H)$ and the Hammett σ constants of substituent groups

Each dye: 5×10^{-5} M; Co: 30 ppb; H_2O_2 : 0.25%; pH: 10.0~10.3; Temperature: 30°C

持つ色素はその置換基が退色を促進する効果があり, それより低い値を持つものは逆に退色抑制の効果がある. パラ置換体はどの置換基を導入した色素も退色促進効果を示すが, メタ置換体は水酸基を除いては無置換体と同程度か, やや退色抑制の方向に作用している.

そこで Hammett の置換基定数 $\sigma^{11)}$ とその退色速度との関係を調べ, 結果を Fig. 2 に示す. k_X は置換基を持つ色素の反応の見掛けの反応速度定数, k_H は置換基のない色素の反応の見掛けの反応速度定数である. *p*- NO_2 を除いては, $\log(k_X/k_H)$ と σ の間に相関性が見られ, $r = -0.89$ であった. ρ (反応定数) = -1.1 であり, σ が小さい (電子供与性が強い) 置換基ほど退色を促進する傾向があることが明らかとなった. このことは

置換基によって増減する炭素-アゾ窒素上の電子密度が退色性を決めることを示唆しており、先の推定を支持し

Table 1 H acid monoazo compounds and their relative analytical sensitivity

R (symbolized as)	λ_{\max}^a /nm	$\ln(A_1/A_6)^d$ (pH)	
	H	528	0.0823(10.0)
	<i>p</i> -OH	548 598 ^{b)}	2.46 ^{c)} (12.5)
	<i>m</i> -OH	530 538 ^{c)}	0.297 (12.5)
	<i>p</i> -OCH ₃	547	0.234 (9.0)
	<i>m</i> -OCH ₃	532	0.0285(8.7)
	<i>p</i> -CH ₃	540	0.121 (8.6)
	<i>m</i> -CH ₃	532	0.0497(8.6)
	<i>p</i> -COOH	536	0.120 (12.4)
	<i>m</i> -COOH	530	0.104 (11.5)
	<i>p</i> -SO ₃ H	528	0.174 (11.3)
	<i>m</i> -SO ₃ H	526	0.0747(10.0)
	<i>p</i> -NO ₂	542	0.188 (10.3)
	<i>m</i> -NO ₂	524	0.0449(8.5)

a) Concentration of dye : 5×10^{-5} M, pH 4~7. b) pH 12.5. c) pH 11. d) Maximum values at optimum pH. Color-fading conditions : 5×10^{-5} M dye, 30 ppb Co, 0.25% H₂O₂. e) 3 ppb Co

ている。

パラ位にニトロ基を導入した色素については、以上の直線から外れ、高い退色性を示した。このニトロ基の高い退色性は、強い電子吸引性によって、ベンゼン環側炭素とアゾ窒素上に強い二重結合性を生じ、炭素-窒素上の π 電子密度が高くなるためであると説明される¹²⁾。

以上の H 酸モノアゾ色素の退色性の検討から、アゾ化合物の接触分析試薬は炭素-アゾ窒素上の電子密度を増加させる構造、すなわち置換基が炭素-アゾ窒素上の電子密度を増加させる位置に導入されたとき、より高感度な接触分析試薬が得られると言える。

3.3 *p*-OH を用いたコバルトの最適分析条件の検討

以上の検討結果から、*p*-OH によるコバルトの分析が非常に高感度であると予想されるので、次に *p*-OH を用いたコバルトの最適分析条件を検討した。

3.3.1 コバルト及び過酸化水素による *p*-OH の退色

p-OH はコバルト、過酸化水素の共存によりアルカリ性で退色し、青色から無色になる。その吸収スペクトルを Fig. 3 に示す。pH 10.6 においては 600 nm における吸収強度は、5 分で 50%、30 分で 85% 減少している。過酸化水素単独の場合でも、*p*-OH は徐々に退色するが、その速度は非常に小さく、60 分の放置でも吸収強度は 10% 程度しか減少しなかった。一般に高感度な

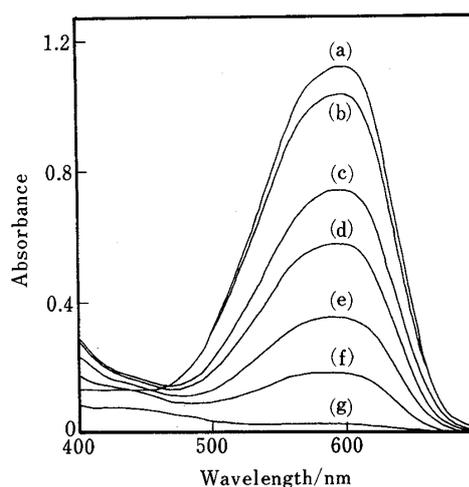


Fig. 3 Absorption spectra of *p*-OH at various standing time

p-OH : 3.5×10^{-5} M; Tiron : 2×10^{-3} M; H₂O₂ : 0.25% ; pH 10.6; Temperature : 23°C. (a), (b) : cobalt blank; (c)~(g) : *p*-OH solution in the presence of 2 ppb Co; Standing time : (a) 1 min, (b) 60 min, (c) 2 min, (d) 5 min, (e) 15 min, (f) 30 min, (g) 60 min

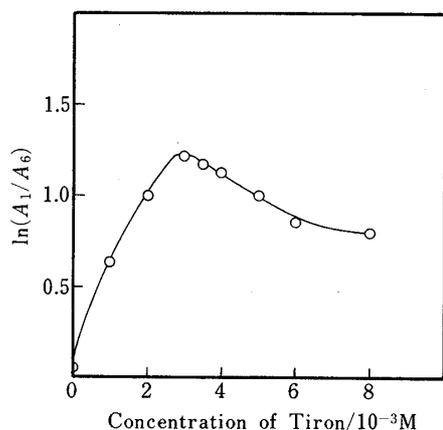


Fig. 4 Effect of Tiron on the color-fading of *p*-OH with cobalt

p-OH: 3.5×10^{-5} M; Co: 2 ppb; H₂O₂: 0.25%; pH 10.4; Temperature: 30°C

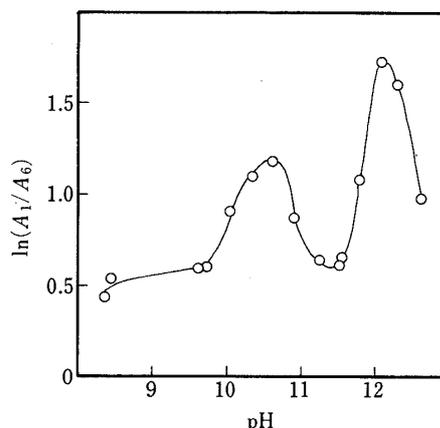


Fig. 5 Effect of pH on the color-fading of *p*-OH with cobalt

Tiron: 1×10^{-3} M. See Fig. 4 for other conditions.

接触分析試薬は、それ自身も不安定で酸化退色を受けることが多く、試薬から試験値が高くなるおそれがある。*p*-OH はコバルトに対して感度よく、しかも試薬自身は比較的安定で、良好な接触分析試薬と考えられる。

3.3.2 活性化剤の影響 活性化剤は主反応の速度には全く影響を与えないが、接触反応の速度を著しく増加させる作用を持つものである。その選択は現在のところ試行錯誤の状態であるが、無機イオンと錯形成する各種の配位子が用いられている¹³⁾。本研究では活性化剤としてコバルトの接触分析によく用いられているタイロンを用いることにし、その影響を検討した。Fig. 4 に示したように、タイロンは活性化剤として効果があり、本研究では最大の反応速度の得られる 3×10^{-3} M を用いることにした。

3.3.3 pH の影響 *p*-OH の退色に及ぼす pH の影響を検討した結果を Fig. 5 に示す。pH 10.5 及び 12 付近で退色速度の増大が見られる。pH 12 の場合のほうが退色速度は大きく感度は良いと考えられるが、非常に pH の影響を受けやすい。pH 12 では良好な緩衝溶液を見出すことはできなかった。pH 10.5 では、pH 12 に比較して感度は劣るが、pH 調整しやすく、緩衝溶液を添加して pH の変動を小さくすることが可能である。従って、本法では試料溶液に 0.18 M Na₂CO₃-0.02 M NaHCO₃ 緩衝溶液 10 ml を添加し、pH を 10.5 に調整することにした。なお、過酸化水素が存在しなければ、*p*-OH は pH 10.5 でコバルトが共存しても測定時間内 (10 分) では全く退色しなかった。

3.3.4 その他の条件の検討 過酸化水素濃度 0.1

% までは濃度の増加と共に退色速度も急激に増加したが、それ以上の濃度では退色速度は徐々に増加する傾向が見られた。しかし、0.3% 以上では過酸化水素の分解により発生する酸素のためベースラインが乱れ、誤差の原因となる。そこで過酸化水素の濃度を 0.25% とすることにした。*p*-OH 濃度については、濃度が増加するにつれ反応速度は増大すると考えられる。そのため、*p*-OH 濃度は高いほうが望ましく、本研究では検出器の測定可能範囲内 (吸光度 1.8 以下) で用いることのできる最高の *p*-OH 濃度 3.5×10^{-5} M を用いることにした。又、Fig. 3 の吸収スペクトルから、測定波長は *p*-OH が pH 10.5 において極大吸収波長を持つ 600 nm とした。温度の上昇に伴い反応は促進され反応速度は大きくなるが、室温でコントロールしやすい 30°C を用いることにした。

3.4 検量線及び再現性

以上の最適分析条件下で検量線を作成したところ、コバルト濃度 0 から 1.2 ppb で良好な直線関係が得られた (Fig. 6)。再現性はコバルト濃度 0.6, 1.0, 2.0 ppb に対し、それぞれ相対標準偏差 7.0, 6.9, 4.7% ($n=7$) となり、検量線の湾曲した範囲 (1.2~2.0 ppb) でも再現性は良好で、定量が可能であった。

このように *p*-OH によるコバルトの定量は、AB10 を用いる方法より 25 倍程感度は向上し、3.2 で得られた試薬の設計指針によりアゾ系試薬に関するコバルトの接触分析試薬の設計が可能であると考えられる。

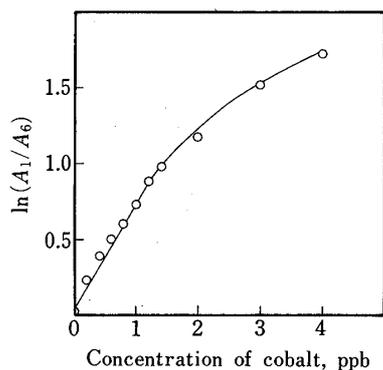


Fig. 6 Calibration curve for cobalt determination

Tiron: 3×10^{-3} M; pH 10.5. See Fig. 4 for other conditions.

3.5 共存元素の影響

高感度の接触分析法は、他の遷移金属イオンも触媒作用を示すことが多く、妨害を受けやすい。そこで、コバルトの定量における共存元素の影響を、コバルト 1 ppb に対し、遷移金属であるマンガン、銅、ニッケル、バナジウム、鉄を共存させて定量操作を行うことにより検討した。相対誤差 $\pm 10\%$ 以内を許容量とすると、マンガンはコバルトと同様に触媒作用を示し、コバルトの 10 倍量では妨害しなかったが、20 倍量では相対誤差 17.5% で正に妨害した。それ以外の銅、ニッケル、バナジウム、鉄はコバルトの 1000 倍量共存させても妨害しなかった。

文 献

- 1) 河嶋拓治, 米原範伸: 分析化学, **21**, 825 (1972).
- 2) 河嶋拓治, 島山直子, 鎌田政明, 中野恵文: 日化, **1981**, 84.
- 3) 渡辺邦洋, 堤あかね, 小浦延幸: 分析化学, **38**, 691 (1989).
- 4) M. Otto, J. Rentsch, G. Werner: *Anal. Chim. Acta*, **147**, 267 (1983).
- 5) T. Deguchi, A. Higashi, I. Sanemasa: *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **59**, 295 (1986).
- 6) T. Yamane: *Anal. Chim. Acta*, **130**, 65 (1981).
- 7) M. L. Estelles, A. S. Cabeza, J. M. Escriche: *Analyst* (London), **111**, 193 (1986).
- 8) G. S. Nettleton, L. R. Johnson, T. E. Sehlinger: *Stain Tech.*, **61**, 329 (1986).
- 9) A. Sevillano-Cabeza, M. Llobat-Estelles, J. Medina-Escriche: *Analyst* (London), **110**, 1333

(1985).

- 10) N. Kuramoto, T. Kitao: *J. Soc. Dyers Colour*, **98**, 334 (1982).
- 11) 大龍仁志, 田中元治, 舟橋重信: “溶液反応の化学”, p. 59 (1982), (学会出版センター).
- 12) 萩原 篤, 永井芳男: 工化, **62**, 1011 (1959).
- 13) 中野恵文, 河嶋拓治: ぶんせき, **1987**, 317.

☆

Synthesis of monoazo derivatives of 1-amino-8-naphthol-3,6-disulfonic acid as new reagents for catalytic analysis of cobalt and the effect of substituted groups on their analytical sensitivity. Kunihiro WATANABE, Akane TSUTSUMI and Nobuyuki KOURA (Faculty of Science and Technology, Science University of Tokyo, 2641, Yamazaki, Noda-shi, Chiba 278)

In order to develop new reagents for catalytic analysis of cobalt, monoazo derivatives of 1-amino-8-naphthol-3,6-disulfonic acid having electron-attractive or -donative groups were synthesized. Relationship between the structure of dyes and sensitivity for the catalytic analysis of cobalt was investigated. By following the Hammett's law, the fading rate of almost all of the examined dyes was accelerated by substitution of electron-donative groups in the dyes. The dyes having electron-donative groups were useful as the sensitive reagents for the catalytic analysis of cobalt. Further, the optimum conditions were investigated for the determination of cobalt with the most sensitive reagent, 1-amino-8-hydroxy-7-(*p*-hydroxyphenylazo)-3,6-naphthalenedisulfonic acid (*p*-OH) among the examined dyes. The procedure was as follows: Take a sample solution containing less than 60 ng of Co (II), add 1.5 ml of 0.1 M Tiron solution and 5 ml of 3.5×10^{-4} M dye solution, and dilute the solution with water to a 50 ml after adjusting pH to 10.5. Then, circulate the solution through a flow cell in order to determine the absorbance with tube pump (flow rate: 2.5 ml/min). Add 2 ml of hydrogen peroxide solution (6.2%). Read the values (A_1 , A_6) of absorbance after 1 min and 6 min, respectively. A calibration curve was constructed by relationship between $\ln(A_1/A_6)$ and the concentration of cobalt. The values of $\ln(A_1/A_6)$ were nearly proportional up to 1.2 ppb of cobalt, and the relative standard deviation was 6.9% ($n = 7$) at 1 ppb of cobalt.

(Received December 28, 1989)

Keyword phrases

H acid monoazo compounds; catalytic analysis of Co (II); 1-amino-8-hydroxy-7-(*p*-hydroxyphenylazo)-3,6-naphthalenedisulfonic acid.