

三种新偶氮安替比林显色剂的合成及分析应用

Synthesis and Application of Three New Antipyrene Azo Chromogenic Agents

刘 峥

Liu Zheng

(桂林工学院材料与化学工程系 桂林市建干路 12号 541004)

(Dept. of Materials and Chem. Engi., Guilin Institute of Tech.

12 Jianganlu, Guilin, Guangxi, 541004, China)

摘要 合成 3 种新的偶氮安替比林显色剂: 5-(4-安替比林偶氮)-8-羟基喹啉 (AAHQ), 1-(4-安替比林偶氮)-2-萘酚 (AANP) 和 3,6-二(4-安替比林偶氮)-H 酸 (AAHA)。分析其与 5 种金属离子的显色反应, 建立了 AAHQ 测定微量 Cu(II) 的新方法, 其摩尔吸光系数 ϵ 为 $1.67 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, Sandell 灵敏度为 $0.0038 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$, Cu(II) 在 $0 \sim 30 \mu\text{g}/25 \text{ ml}$ 范围内符合比耳定律。方法用于生物样中 Cu(II) 的测定, 结果满意。

关键词 安替比林偶氮显色剂 金属离子 光度分析

中图分类号 0626.21

Abstract The synthesis procedures for three new antipyrene azo agents, 5-(4-antipyrene azo)-8-hydroxyquinoline (shorted in AAHQ), 1-(4-antipyrene azo)-2-naphthol and 3,6-2(4-antipyrene azo)-H acid, are described. Some chromogenic reactions on five metal ions are analyzed. A method for testing trace Cu^{2+} with AAHQ is presented, with molar absorption coefficient ϵ being $1.67 \times 10^4 \text{ L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ and Sandell sensibility $0.00384 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-2}$. The copper amount obeys Beer's law in the range of 0 to $30 \mu\text{g}/25 \text{ ml}$. Determination result for Cu^{2+} in food samples is satisfying.

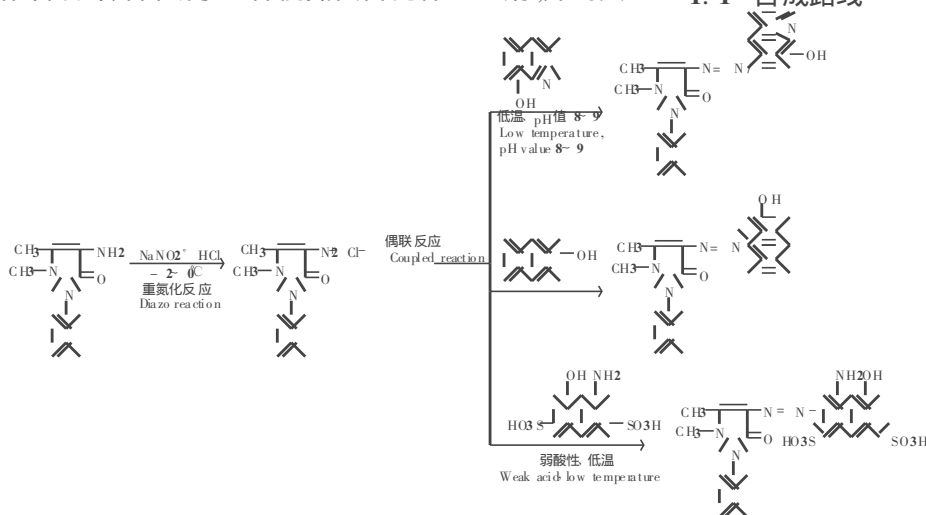
Key words antipyrene azo chromogenic agent, metal ion, spectrophotometry

安替比林偶氮类试剂在杂环偶氮类试剂中是一类较新的试剂, 其分析功能团含 O、N 电子给体, 与金属离子配位能力强。目前见诸于报道的 20 余种^[1-5]。作者设计并合成了 3 种偶氮安替比林显色剂, 并对其

光度性能进行了研究

1 试剂的合成与鉴定

1.1 合成路线



1.2 合成步骤

称取 1.175 g 4-氨基安替比林,溶于 10 ml 水和 2 ml 浓盐酸中,水浴冷却 - 2~ 0°C,不断搅拌下,缓慢滴入含有 0.44 g 亚硝酸钠的 3 ml 水溶液,反应温度控制在 5°C 以下,滴完后继续搅拌 0.5 h

1.2.1 5-(4安替比林偶氮)-8-羟基喹啉的合成

低温下,将上面制备好的安替比林重氮盐缓慢滴入 0.91 g 8-羟基喹啉的稀碱液中,pH 值控制在 8~9,并不断搅拌,滴完后继续搅拌 2 h,放置过夜,加浓盐酸析出粗产品,过滤,烘干。粗品溶于适量热的 DMF 中,加水至刚有晶体析出,放置数小时,过滤,烘干,得暗棕色精品。

1.2.2 1-(4安替比林偶氮)-2-萘酚的合成

低温下,将上面制备好的安替比林重氮盐缓慢滴入 β -萘酚的弱碱性溶液中,并不断搅拌,滴完后,在保持温度不变情况下继续搅拌 2 h,放置数小时后,加浓盐酸析出粗品,用 4:1 乙醇-水重结晶,得桔红色纯品。

1.2.3 3,6-二(4安替比林偶氮)-H-酸的合成

低温下,将上面制备好的安替比林重氮盐缓慢滴入 H-酸的弱酸性溶液中,并不断搅拌,放置后,用浓盐酸酸化即析出粗品,用 4:1 乙醇-水重结晶,得黑色纯品。

1.3 纯品的鉴定

1.3.1 薄层层析鉴定

试剂粗品在薄层硅胶板上展开得 3 点(展开剂为正丁醇:乙酸:水 = 4:1:5 的混合液)最上一点为黄色,中间一点为有效色,最下一点为白色,黄色斑点为 4-氨基安替比林重氮盐分解物,白色斑点为其它杂质,经重结晶提纯后,试剂纯品只有一个斑点。3 种试剂的层析显示于图 1,它们的比移值为:AAHQ: Rf = 0.46, AANP: Rf = 0.80, AAHA: Rf = 0.63

1.3.2 元素分析测试

元素分析结果见表 1

1.3.3 红外光谱测试

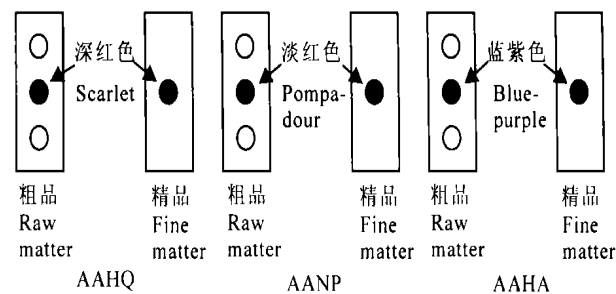


图 1 试剂的薄层层析

Fig. 1 The chart of agents by thin layer chromatography

1.4 试剂理化性质比较

1.4.1 试剂物理性质

1.4.2 试剂与金属离子显色反应

根据光度分析的一般规律,从表 4 至表 6 可知,三种试剂在一定的条件下,均可作光度分析的显色剂。本文利用 AAHQ 在 pH 值 = 2 测定了 Cu^{2+} 。

2 AAHQ 测定 Cu^{2+}

2.1 主要试剂与仪器

5% AAHQ 溶液:称取试剂纯品 0.1119 g,用 200 ml 1:1 DMF 和 95% 乙醇溶解,移至 250 ml 容量瓶中,稀释至刻度;pH 值 = 2 的缓冲溶液:0.01 mol/L 的盐酸溶液;1% 的 CTMAB 溶液:称取 1g CTMAB 于 100 ml 容量瓶中,用蒸馏水稀释至刻度;柠檬酸铵-EDTA 溶液:20 g 柠檬酸二铵和 5 g 乙二胺四乙酸二钠于水中,稀释至 100 ml;铜标准液:10 $\mu\text{g}/\text{L}$

7210 型分光光度计(上海分析仪器厂);pHS-2 型酸度计(上海雷磁仪器厂)。

2.2 实验方法

准确移取 10 μg 铜(II),置于 250 ml 比色管中,加 5 ml 0.05% 的 AAHQ 显色剂溶液,1% CTMAB 溶液 25 ml,用 0.01 mol/L HCl 调节溶液至 pH 值 = 2,用水稀释至刻度,摇匀,在 7210 型分光光度计上于配合物最大吸收波长 450 nm 处用 2 cm 比色皿,以相应试剂空白作参比,测定吸光度值。

表 1 元素分析数据

Table 1 Elementary analysis data

试剂及分子式 Agent and molecular formula	C(%)		N(%)		H(%)		S(%)	
	计算值 Calculation	分析值 Observation	计算值 Calculation	分析值 Observation	计算值 Calculation	分析值 Observation	计算值 Calculation	分析值 Observation
AAHQ								
$\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{N}_5\text{O}_2$	66.84	66.94	19.49	19.90	4.76	5.04		
AANP								
$\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_2$	70.40	69.30	15.64	15.98	5.08	5.09		
AAHA								
$\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{S}_2\text{N}_5\text{O}_8$	47.18	46.98	13.10	12.93	3.77	3.58	11.99	11.18

表 2 红外光谱数据

Table 2 Infrared spectrum data

试剂 Agent	波数 Wave number (cm^{-1})	存在基团 Group
AANP	1 399. 8	- N= N-
	2 300	CH ₃ - C= C上的 - CH ₃
	1 664. 2	C= O(与 N相连)
	1 297. 7	C- N
	1 292. 5	- C= C(与 C= O共轭)
AAHQ	3 080- 3 030	Ar- H上的 C- H
	1 675. 4	C= O(与 N相连)
	1 339. 8	- N= N-
	2 362. 7	CH ₃ - C= C上的 - CH ₃
	1 592. 6	- C= C(与 C= O共轭)
AAHA	3 360	- O- H
	1 636. 1	C= O(与 N相连)
	1 399. 7	- N= N-
	695. 3	C- S
	1 559. 9	- C= C(与 C= O共轭)
	1 089. 5- 1 035. 9	S= O
	3 426. 8	N- H

表 3 试剂的物理性质

Table 3 Physical behavior of agents

试剂 Agent	外观 Appearance	熔点 Melting point ($^{\circ}\text{C}$)	溶解性 Dissolvableness			
			DMF	水 Water	乙醇 Ethanol	丙酮 Acetone
AAHQ	暗棕色 Dark brown	195~ 196	溶 Dissolve	不溶 Indissolve	溶 Dissolve	不溶 Indissolve
AANP	桔红色 Nacarat	233~ 235	溶 Dissolve	不溶 Indissolve	溶 Dissolve	溶 Dissolve
AAHA	黑色 Black	295~ 298	溶 Dissolve	溶 Dissolve	溶 Dissolve	不溶 Indissolve

表 4 AAHQ与金属离子显色性能

Table 4 Chromogenic reaction of AAHQ with metal ions

离子 Ion	显色 pH值 pH value at chromogenic	λ_{max}^R	$\lambda_{\text{max}}^{CR}$	对比度 Contrast $\Delta\lambda$	$\times 10^4$	桑德尔灵敏度 Sandell sensitivity ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
Cu ²⁺	2	380	550	170	1.38	0.0046
Ca ²⁺	2	380	590	210	0.16	0.025
Bi ³⁺	2	380	540	160	0.98	0.021
Co ²⁺	4	380	540	160	1.08	0.0054
Ni ²⁺	4	380	540	160	2.03	0.0028

表 5 AANP与金属离子显色性能

Table 5 Chromogenic reaction of AANP with metal ions

离子 Ion	显色 pH值 pH value at chromogenic	λ_{max}^R	$\lambda_{\text{max}}^{CR}$	对比度 Contrast $\Delta\lambda$	$\times 10^4$	桑德尔灵敏度 Sandell sensitivity ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
Cu ²⁺	8	460	520	60	1.18	0.0054
Ca ²⁺	6	460	470	10	1.64	0.0024
Bi ³⁺	6	460	460	0	7.95	0.0026
Co ²⁺	2	420	530	110	2.60	0.0023
Ni ²⁺	6	460	520	60	3.92	0.0016

表 6 AAHA与金属离子显色性能

Table 6 Chromogenic reaction of AAHA with metal ions

离子 Ion	显色 pH值 pH value at chromogenic	λ_{max}^R	$\lambda_{\text{max}}^{CR}$	对比度 Contrast $\Delta\lambda$	$\times 10^4$	桑德尔灵敏度 Sandell sensitivity ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
Cu ²⁺	4	580	640	60	3.30	0.0190
Ca ²⁺	2	580	610	30	0.21	0.019
Bi ³⁺	\	\	\	\	\	\
Co ²⁺	2	580	610	30	0.17	0.085
Ni ²⁺	2	580	740	160	0.16	0.032

2.3 试验条件的选择

2.3.1 试剂及配合物的吸收曲线

按 2.2 实验方法,仅改变测定波长进行实验,结果见图 2 从图 2 中可知,试剂最大吸收波长位于 550 nm,对比度 $\Delta\lambda = 170 \text{ nm}$,加入表面活性剂 CTMAB 后,显色反应吸光度值增大

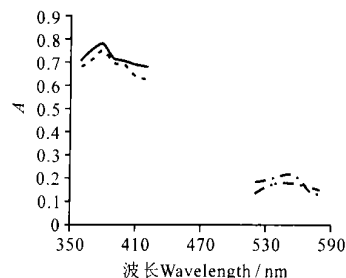


图 2 吸收曲线

Fig. 2 Absorbion curve

— 试剂(水参比) Agent (water as control); - - 试剂 + CTMAB(水参比) Agent+ CTMAB (water as control); - · - · 络合物(试剂空白参比) Complex (agent as control); - ° - ° 络合物 + CTMAB(试剂 + CTMAB参比) Complex+ CTMAB (agent+ CTMAB as control)

2.3.2 显色剂的用量

按 2.2 实验方法,仅改变显色剂用量进行实验,结果见图 3,从图 3 中可知,显色剂用量在 4~ 6 ml 范围内,有较稳定的吸光度值,本文选用显色剂用量为 5 ml

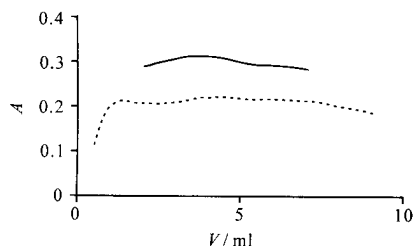


图 3 显色剂用量对吸光度值的影响

Fig. 3 Effect of amount of agent on absorbability

— 15 μg Cu²⁺; — 10 μg Cu²⁺

2.3.3 表面活性剂的种类选择

考察了多种表面活性剂对显色反应的影响,结果见表 7

表 7 表面活性剂对吸光度值的影响

Table 7 Effect of surface active agents on absorbability

表面活性剂 Surface active agent	络合物吸光度值 Absorbability of complex
聚乙烯醇 Poly(vinyl alcohol)	0.153
十二烷基硫酸钠 SDS	0.173
阿拉伯树胶 Arabic gum	0.161
OP	0.178
吐温 Tween	0.188
CTMAB	0.216

注:不加表面活性剂时 $A = 0.180$ Mark $A = 0.180$ in the situation of nothing surface active agent; SDS Sodium dodecyl sulfonate

从表 7 可知,只有 CTMAB 对显色反应具有增敏作用。按 2.2 实验方法,仅改变 CTMAB 用量进行实验,结果见图 4 从图 4 可知,当 CTMAB 用量在 2~3 ml 变化时,体系吸光度值变化平稳,本文选用 CTMAB 用量为 2.5 ml

2.3.4 显色反应 pH 值的选择

按 2.2 实验方法,仅改变显色反应 pH 值进行实验,结果见图 5 从图 5 可知,当 pH 值在 1.5~2.5 之间变化时, A 值比较平稳。本文选用最佳 pH 值 = 2

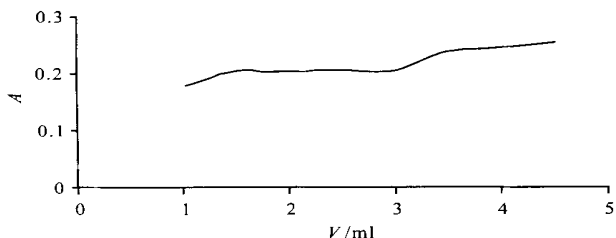


图 4 CTMAB 用量的影响

Fig. 4 Effect of CTMAB

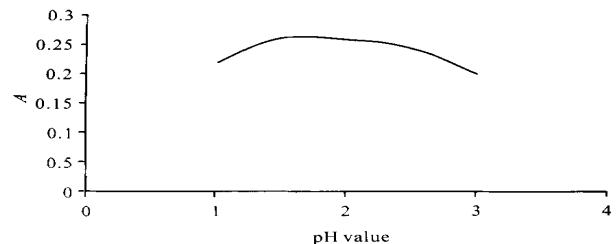


图 5 pH 值对吸光度值的影响

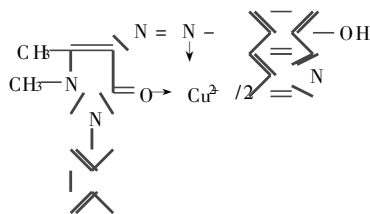
Fig. 5 Effect of pH value on absorbability

2.3.5 体系有色配合物的稳定性

按 2.2 实验方法,用水稀释至刻度后,放置不同的时间进行实验,以测定其稳定性,结果表明铜与 AAHQ 的显色反应可迅速完成,吸光度在 60 min 以内基本不变

2.3.6 络合比的测定

由连续浓度变化和摩尔比法测定与铜的络合物组成,其络合比为 2:1 由此推断,试剂与 Cu^{2+} 按以下方式络合:



2.3.7 精密度的测定

按 2.2 实验方法,用 $10 \mu\text{g Cu}^{2+}$ 标准液平行做 11 次实验,计算出 RSD 为 2.4%

2.3.8 工作曲线的测定

实验结果表明,铜量在 $0 \sim 30 \mu\text{g}/25 \text{ml}$ 范围内,显色反应符合比尔定律,显色反应的摩尔吸光系数为 $1.67 \times 10^4 \text{L} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。线性回归方程为 $y = 0.0209x + 0.0014 (r = 0.9999)$

2.3.9 常见共存离子的干扰

控制相对误差在 $\pm 5\%$ 以内,按 2.2 实验方法,对 $10 \mu\text{g Cu}^{2+}$ 的测定,常见离子的允许量见表 8

表 8 常见干扰离子的允许量

Table 8 Max limited amount of interference ions

干扰元素 Interference ion	存在形式 Form of presence	最大允许量 Max limited amount (μg)	相对误差 Relative error (%)
Ca^{2+}	CaCl_2	900	3.1
Mg^{2+}	MgCl_2	≥ 1000	4.5
Bi^{3+}	Bi	50	5.0
Cr^{3+}	$\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$	2.5	5.0
Mn(VI)	$\text{Na}_2\text{M}_2\text{O}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	370	2.9
Cd^{2+}	$3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$	10	3.2
Pb^{2+}	$\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$	100	4.2
Al^{3+}	$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	5	3.5
W(VI)	$(\text{NH}_4)_5\text{H}_5(\text{W}_4\text{O}_{16}) \cdot 6.5\text{H}_2\text{O}$	300	1.5
Fe^{2+}	$\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	/	/
Co^{2+}	$\text{CoCl}_2 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	/	/
Zn^{2+}	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	5	0.5
Mn^{2+}	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	50	2.0
CO_3^{2-}	Na_2CO_3	800	4.8
PO_4^{3-}	NaH_2PO_4	950	1.7
SiO_3^{2-}	Na_2SiO_3	≥ 1000	0
K^+	KCl	≥ 1000	4.5
Na^+	NaCl	≥ 1000	3.5
蔗糖 Sugar	$\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{O}_{11}$	≥ 1000	3.3
氨基酸 Amino acid	$\text{H}_2\text{N}-\text{C}_2-\text{HCOOH}$	750	5.4
Ni^{2+}	$\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	/	/
V(VI)	NH_4VO_3	/	/

由表 8 可知, Fe^{3+} 、 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 $V(VI)$ 严重干扰 Cu^{2+} 的测定, 必须消除这些离子的干扰。

2.3.10 分离干扰的方法

依据文献 [6], 柠檬酸铵与 EDTA 可作为测定 Cu^{2+} 混合物掩蔽剂, 以消除 Fe^{3+} 、 Al^{3+} 、 Zn^{2+} 等离子干扰。本文采用柠檬酸铵与 EDTA 混合试剂分离干扰离子, 应用 $10\mu g Cu^{2+}$ 加 $500\mu g$ 干扰离子作实验, 结果见表 9。

可见, 在测 Cu^{2+} 时, 加一定量的柠檬酸铵 - EDTA 可以同时掩蔽 Co^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Fe^{3+} 、 Zn^{2+} 、 $V(VI)$ 、 Al^{3+} 离子的干扰。

表 9 干扰离子掩蔽剂的用量

Table 9 Amount of masking agents against interference ions

干扰离子 Interference ion	M: Cu^{2+}	掩蔽剂用量 Amount used (ml)	回收率 Recovery (%)
Fe^{3+}	50: 1	0.88	98.80
Co^{2+}	50: 1	1.40	99.60
Ni^{2+}	50: 1	1.25	103.1
Zn^{2+}	50: 1	0.50	99.8
Al^{3+}	50: 1	0.50	98.9
$V(VI)$	50: 1	1.40	101.2

表 10 实物分析结果及回收率

Table 10 Analysis results and recovery of samples

样品 Sample	单次测定结果 Single test	平均值 Average	RSD (%)	取样量 Sampling (mg)	含量 Content (μg)	加入量 Addition (μg)	测得量 Observation (mg)	回收率 Recovery (%)
茶叶 Tea leaves	4.10 4.04	4.13	2.23	2.00	3.32	5	8.35	101
	4.20 4.20 4.09						9.94	94.5
绿豆 Mung bean	6.70 6.69	6.65	0.78	2.00	5.32	5	10.22	98.0
	6.56 6.64 6.64						12.98	109.4
小米 Millet	114 110	110	0.83	1.00	5.5	5	10.36	99.2
	110 109 109						12.37	98.1
男性头发 Male hair	26.2 26.8	26.3	1.28	4.00	4.18	5	8.83	92.4
	26.5 26.3 25.9						10.96	96.4
女性头发 Female hair	22.8 22.3	23.4	3.6	5.00	5.00	5	7.45	103
	24.2 24.2 23.3						9.12	97.4

参考文献

- 章明, 吴斌才. 某些安替比林偶氮苯甲酸类试剂的合成及与钼显色反应的研究. 化学试剂, 1994, 16(3): 136~138.
- 欧忠平, 田军. 几种新的偶氮安替比林类显色剂的合成及其与钙显色反应的研究. 化学试剂, 1991, 13(4): 211~213.
- 章明. 新显色剂氯羧偶氮安替比林的合成及其光度性能

3 分析应用

3.1 食品样处理

取适量食品样(茶叶、绿豆、小米), 洗净, 烘干, 研碎, 分别称取茶叶、绿豆、小米 20.000 g, 20.000 g, 5.000 g 于瓷坩锅中, 放入马弗炉, 从低温升至 $800^{\circ}C$, 灼烧 2~3 h, 取出冷却, 分别转移入 50 ml, 50 ml, 100 ml 容量瓶中, 定容, 摇匀, 备用。

3.2 头发样处理

取适量头发, 用水洗净, 用丙酮浸泡 0.5 h, 然后用蒸馏水冲洗 3~5 次, 于 $100^{\circ}C$ 左右烘干, 分别称取女性头发 0.500 g, 男性头发 1.000 g, 于低温碳化, 高温灰化后, 用 HNO_3 溶解至中性后, 分别称入 25 ml 容量瓶中, 摇匀, 备用。

3.3 实物分析结果及回收率

准确称取适量待测液于 25 ml 比色管中, 加入一定量柠檬酸铵 - EDTA 试剂, 按 2.2 实验方法测出 A 值, 代入线性回归方程, 计算 Cu^{2+} 的含量, 并做加标回收试验, 结果见表 10。

的研究. 化学试剂, 1995, 17(1): 17~18, 58.

- 章明, 薛得钧. 新安替比林偶氮试剂的合成及其对钼高灵敏显色反应的研究. 化学试剂, 1994, 16(2): 80~82.
- 艾萍, 徐其享. 三种新安替比林偶氮衍生物的合成及其分析应用. 化学试剂, 1990, 12(5): 277~279.
- 无锡轻工业学院, 天津轻工业学院编. 食品分析. 北京: 轻工业出版社, 1983.

(责任编辑: 蒋汉明)