ノ ー ト

オンライン膜濃縮/酸溶出による水中の微量亜硝酸イオンの吸光光度定量

田 口 茂^{®*}, 高吉 健二^{*}, 笠原 一世^{*}

On-line preconcentration with membrane filter and elution with acid for the spectrophotometric determination of trace nitrite in water

Shigeru TAGUCHI, Kenji TAKAYOSHI and Issei KASAHARA^{*}^{*} Faculty of Science, Toyama University, 3190, Gofuku, Toyama 930

(Received 16 January 1997, Accepted 1 March 1997)

An on-line preconcentration method incorporated with a membrane filter for the determination of trace nitrite in water was studied. Nitrite was reacted with 4-aminobenzene-sulfonic acid to be converted into 4-sulfobenzenediazonium ion, then coupled with *N*-(1-naphthyl)ethylenediamine to form an azo dye. A solution of benzyldimethyltetradecylammonium was added to the solution at pH 10 where the azo dye is an anion. One ml of the solution was loaded from an injector to the line, and the azo dye was collected on a cellulose nitrate membrane devise attached to the line as an ion-associate with a cationic surfactant. The azo dye on the filter was eluted with an acidic medium of pH 1, which was loaded from the same injector. The absorbance at 550 nm due to the azo dye was monitored with a UV/VIS detector. The calibration graph was linear up to $100 \mu\text{g dm}^{-3} \text{NO}_2^-$; the detection limit was defined as three-times the standard deviation of the blank on $3.3 \mu\text{g dm}^{-3} \text{NO}_2^-$. This method has the following advantages: free of any organic solvent, small sample volume, high sensitivity, and low analysis cost. The recoveries of the nitrite added to river-water samples were satisfactory.

Keywords: nitrite ion; solid-phase extraction with a membrane filter; on-line preconcentration and spectrophotometry

1 緒 言

今日、有機溶媒を用いる分離分析の分野では、環境汚染の観点から、低毒性の溶媒を少量用いる方向への転換が進んでいる。著者らが提案した、溶媒可溶性メンブランフィルター（膜）を用いる濃縮/定量法は、このような方向に沿う方法の一つと考えられる¹⁾²⁾。又、メン

ランフィルターに目的成分を捕集後、捕集面の反射吸光度を測定する方法は、溶媒を用いない濃縮/定量法として更に発展すると考えられる³⁾。一方、膜捕集の新しい展開として、Matsubara らは、膜捕集/濃縮を組み込んだ過酸化水素のオンライン吸光光度法を⁴⁾、又伊藤らは、オンラインによる膜濃縮と HPLC を結びつけたフェノール類の定量法を報告している⁵⁾。今回著者らは、膜濃縮/酸溶出による微量亜硝酸イオンのオンライン定量法の開発を試みた。この方法は HPLC 装置のカラム

^{*} 富山大学理学部生物圏環境科学科: 930 富山県富山市五福 3190

の代わりに、メンブランフィルターを装着したラインフィルターを組み込んだシステムである。この方法の特長として、(1)有機溶媒を必要としない、(2)イオン対に対する捕集能は高いが溶媒に侵されやすい、硝酸セルロース製のメンブランフィルターを用いることができる、(3)試料量が少量でよい、(4)高感度である、(5)1枚の小さいフィルター（直径6mm）を十数回使用できるので低コストである、などを挙げることができる。著者らは、既に溶媒可溶性のメンブランフィルターを用いる亜硝酸イオンの吸光光度定量法を報告した⁶⁾⁷⁾。本報告では、同じ反応で亜硝酸を発色させた後、オンラインシステムで膜濃縮/酸溶出/検出することを検討し、開発した方法を河川水中の亜硝酸イオンの定量に応用した。

【本法の原理】 亜硝酸に4-アミノベンゼンスルホン酸、次いで *N*-1-ナフチルエチレンジアミンを反応させると、*p*-スルホ-4-フェニルアゾ-*N*-(1-ナフチル)エチレンジアミンが生成する。このアゾ化合物はアルカリ性溶液では-1価、酸性溶液では+1価の電荷を持つので、アルカリ側でゼフィラミンとのイオン対としてメンブランフィルターに捕集した後、酸を加えて電荷を変え、フィルターから溶出できる。

2 実 験

2・1 装 置

送液ポンプ：日立製作所製 655A 型、インジェクションバルブ：Rheodyne 製 7125 型、可視・紫外分光光度検出器：島津製作所製 SPD-6AV 型、記録計：島津製作所製 C-R3A 型クロマトバック、ラインフィルター：ジーエルサイエンス製ステンレス鋼オシネ型ラインフィルター

2・2 試 薬

4-アミノベンゼンスルホン酸 (2.4 mol dm^{-3} 塩酸性) 溶液：和光純薬製窒素酸化物測定用 4-アミノベンゼンスルホン酸 0.6 g を 2.4 M 塩酸に溶解し、全容を 100 cm^3 とした。*N*-1-ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩溶液：和光純薬製特級 *N*-1-ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩 0.2 g を 100 cm^3 の水に溶かし、褐色瓶に入れて冷暗所に保存し、1週間以内に使用した。アンモニア水 (3 mol dm^{-3})：和光純薬製特級 25% アンモニア水を水で希釈して使用した。塩化ベンジルジメチルテトラデシルアンモニウム溶液 ($0.002 \text{ mol dm}^{-3}$)：同仁化学研究所製塩化ベンジルジメチルテトラデシルアンモニウム二水和物（ゼフィラミン）0.0808 g を 100 cm^3 の水に溶かし、二リン酸ナトリウム溶液：和光純薬製特級

Fig. 1 On-line pre-concentration/elution and monitoring system

二リン酸ナトリウム十水和物 4.46 g を 100 cm^3 の水に溶かし、亜硝酸イオン標準液 ($1 \text{ g dm}^{-3} \text{ NO}_2^-$): $105 \sim 110^\circ\text{C}$ で乾燥した和光純薬製特級亜硝酸ナトリウム 1.5 g を水に溶かして 1 dm^3 とした。使用時に適宜希釈した。メンブランフィルター：アドバンテック東洋製の孔径 $0.45 \mu\text{m}$ 硝酸セルロース製メンブランフィルターを直径約 6 mm の円形に切り取って使用した。塩酸/塩化カリウム緩衝溶液 (pH 1): 0.2 mol dm^{-3} の塩化カリウム溶液 25 cm^3 と 0.2 mol dm^{-3} の塩酸 67 cm^3 を混合し、水で 100 cm^3 とした。

2・3 定量操作

2・3・1 発色反応 亜硝酸イオンを含む試料水 ($100 \mu\text{g dm}^{-3} \text{ NO}_2^-$ 以下) 5 cm^3 に、鉄、マンガンの妨害を防ぐマスキング剤として二リン酸ナトリウム溶液 0.1 cm^3 加えた後、4-アミノベンゼンスルホン酸を 0.1 cm^3 加えて 10 分間放置し、ジアゾ化反応を行わせる。次いで *N*-1-ナフチルエチレンジアミン塩酸塩溶液 0.1 cm^3 を加え、カップリング反応によりアゾ色素を生成させる。アンモニア水を 0.5 cm^3 加え pH を約 10 にした後、ゼフィラミン溶液を 0.2 cm^3 加える。

2・3・2 濃縮と検出 上記の反応溶液の一部を、Fig. 1 に示した装置のインジェクター（今回は 1 cm^3 又は 5 cm^3 のサンプルループを使用）から注入し、ラインフィルターに組み込んだメンブランフィルター上にアゾ色素をイオン会合体として捕集する。その際、捕集物のフィルターからの溶離を防ぐためにゼフィラミン溶液をキャリアー液として流しておく。又、このキャリアー液の pH は緩衝液で約 10 にしておく。捕集が終わったら、直ちに同じインジェクターから pH 1 の緩衝液

1 cm³ を注入する。フィルター上のアゾ色素はモル吸光係数の大きい酸型の一価陽イオンとなり、フィルターから溶出する。溶出液の吸光度を紫外可視検出器を用いて 550 nm でモニターする。捕集及び溶出時の流量は 0.4 cm³/min で行った。

3 結果と考察

3.1 諸条件の検討結果

インジェクターからの注入量を 1 cm³ として諸条件を検討した。

キャリアー液中のゼフィラミン濃度と pH の影響：キャリアー液のゼフィラミン濃度は、試料水に添加したゼフィラミンと同じになるように調製し、又 pH も捕集時の pH と同じにした。ゼフィラミンを加えない場合、捕集率が 10~20% 減少した。

溶離液の検討：溶離液に使う酸の種類として、塩酸 (1 mol dm⁻³, 0.1 mol dm⁻³)、硫酸 (0.1 mol dm⁻³)、硝酸 (0.1 mol dm⁻³)、及び塩酸-塩化カリウム緩衝液 (pH 1, pH 2)、酢酸-酢酸ナトリウム緩衝液について検討した。その結果、1 mol dm⁻³ の塩酸を用いた場合と、塩酸-塩化カリウム緩衝液 (pH 1) を用いた場合、最も感度よく測定することができた。そこで本研究ではラインの損傷を考慮に入れ、塩酸-塩化カリウム緩衝液 (pH 1) を溶離液として用いることにした。この溶離液でフィルターに捕集したアゾ色素を 95% 以上溶出させることができた。

フィルター枚数：フィルターを 1 枚の場合と 2 枚重ねた場合とを比較することで捕集率を求めた。その結果、2 枚重ねた場合に 100% 捕集できたとすると 1 枚のみでの捕集率は 97% であった。

流量の影響：流量 0.1~1.5 cm³/min で検討した結果、捕集率、溶出率、測定時間を総合的に判断して、0.4 cm³/min で実験を行うことにした。1 回の測定時間は約 6 分である。

試料量：注入量 1 cm³ のとき、試料量 5 cm³ で 3 回は測定可能である。但し、生成したイオン会合体は容器の器壁に大変吸着しやすいので、精度のよい結果を得るためには、試料量に応じて容器のサイズを適宜変えるといい。

3.2 溶離曲線

溶離曲線の一例を模式的に Fig. 2 に示す。溶離液を注入すると、直ちに溶出が始まる。a) は空試験によるピークである。有機溶媒による溶出では水試料/有機相境界で大きなディップが現れるが⁸⁾、本法では試料、溶

Fig. 2 Elution curves

a) reagent blank; b) NO₂⁻ 50 µg dm⁻³

離液共に水溶液のため、試料/溶離液境界によるピークは小さく、その大きさも再現性があった。b) は NO₂⁻ 濃度が 50 µg dm⁻³ のときの溶離曲線である。フィルターに捕集されたアゾ色素は、溶離液の初めの約 0.2 cm³ 中に濃縮されている。つまり、注入量が 1 cm³ のとき、濃縮倍率は約 5 倍となる。ピーク面積を求め、測定値とした。

3.3 精度と検出限界

1 cm³ を注入したときの検量線は NO₂⁻ 濃度 10~100 µg dm⁻³ の範囲で直線となった。NO₂⁻ 濃度 10, 50, 100 µg dm⁻³ における定量精度を調べたところ、5 回測定の実測標準偏差はそれぞれ 23, 14, 14% であった。又、空試験の標準偏差の 3 倍を検出限界とすると本法では NO₂⁻ 3.3 µg dm⁻³ となった。注入量を 5 cm³ と増やした場合、10 µg dm⁻³ では 5 回測定の実測標準偏差は 10% であった。但し、50 µg dm⁻³ の試料を 1 cm³ 注入したとき、つまりイオン会合体の量が同じときと比べて約 80% のピーク面積であった。先に述べたように、このイオン会合体は容器へ吸着しやすいので、このことが低濃度で予想より低い応答が出る原因の一つとなっていると考えられる。精度、感度を更に向上させるためには容器のサイズや素材の選択、あるいはオンラインで試料と試薬を混合するなどの工夫が必要であると考え

3.4 河川水への添加回収実験

河川水 (富山県神通川, 同常願寺川) に本法を応用したところ、神通川では 15.5 µg dm⁻³ の亜硝酸イオンが検出され、常願寺川では検出限界以下であった。又、これらの河川水に亜硝酸イオンを添加して回収実験を行っ

た結果、精度は低いながらも定量的に回収することができた。

文 献

- 1) 田口 茂, 糸岡栄幸, 後藤克己: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **33**, 453 (1984).
- 2) 田口 茂, 笠原一世, 波多宣子: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **44**, 505 (1995).
- 3) 大関邦夫, 糠塚いそし: ぶんせき (*Bunseki*), **1992**, 264.
- 4) C. Matsubara, K. Sakai, K. Takamura: *Anal. Sci.*, **7** (supplement), 311 (1991).
- 5) 伊藤純一, 広沢幸広, 小俣雅嗣: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **43**, 959 (1994).
- 6) 波多宣子, 山口京子, 笠原一世, 田口 茂, 後藤克己: 第 55 回分析化学討論会要旨集, p. 105 (1994).
- 7) N. Hata, K. Yamaguchi, I. Kasahara, S. Taguchi, K. Goto: Proceedings of International Trace Analysis Symposium, p. 249 (1994).
- 8) S. Taguchi, K. Goto: *Talanta*, **28**, 613 (1981).