(日本化学会誌, 1978, (10), p. 1380~1384)

1-アミノ-2-ナフトール-4-スルホン酸酸化生成物のテンサンメトリー波を用いる微量亜硝酸イオンの定量

(1978 年 5 月 31 日 受理)

野村 毅・中川 元吉*

1-アミノ-2-ナフトール-4-スルホン酸 (ANS) は $\text{pH} < 4$ では溶存酸素による酸化はほとんど無視できるが、微量の亜硝酸イオンの共存により急速に酸化され、生成する酸化生成物が $+0.02 \text{ V vs. SCE}$ ($\text{pH} 2.0$) に非常に感度の高いテンサンメトリー波を示すので、 $0.03 \sim 0.3 \mu\text{g/ml}$ の亜硝酸イオンの定量に応用した。ANS の酸化生成物の交流波は電気毛管曲線、交流波高の温度依存性、交流波に対応して現われる小さな直流波が濃度依存性を示さないことなどから、酸化生成物の吸着に基づくテンサンメトリー波であることが明らかになった。他方、酸化生成物の IR スペクトル, NMR スペクトル, 元素分析などの測定結果からアミノ基を含むナフトキノン構造の酸化物を生成し吸着活性になったものと予想した。 $0.03 \sim 0.3 \mu\text{g/ml}$ 濃度の亜硝酸イオンを 0.025 mol/l フタル酸水素カリウム-過塩素酸緩衝溶液中 ($\text{pH} 2.0$) で $2 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$ ANS を加え、 50°C で 40 分間静置したのちに得られる交流ポーラログラムから精度よく定量することができた。共存イオンの検討の結果, Griess-Romijin 試薬法で妨害となる Al(III) , Bi(III) , Cu(II) , ClO_4^- , NH_4^+ およびアミノ酸, デンブロン, アルコール類などの妨害が少なかった。

1 緒 言

試薬自身は交流ポーラログラム波を示さないが、その酸化生成物が高感度のテンサンメトリー波を示すことを応用して、*o*-アミノフェノールを用いる微量の銅(II)¹⁾, 銀²⁾およびバナジウム³⁾の分析法をさきに報告した。

1-アミノ-2-ナフトール-4-スルホン酸 (以下 ANS と略記する) はそれ自身交流, 直流波ともに示さず, $\text{pH} < 4$ では溶存酸素による酸化反応が非常に遅い。しかし $100 \mu\text{g/ml}$ 程度の亜硝酸イオンの共存によって *o*-アミノフェノールはほとんど酸化されないのに対し, ANS は $1 \mu\text{g/ml}$ 以下のクロム(VI), マンガン(VII), 亜硝酸イオンが共存しても急速に酸化されて高感度のテンサンメトリー波を示す。

一方, 亜硝酸イオンは食品の防腐剤として用いられた場合, 保存中にアミン類をニトロソアミンに変化させることから食品中の有害物質とされている。微量の亜硝酸イオンの分析法としてはスルファニル酸と 1-ナフトルアミンとのジアゾ化による Griess-Romijin 試薬法⁴⁾⁵⁾が感度の点ではすぐれているが妨害となるイオンが多い。

そこで本報では試料溶液を $\text{pH} 2.0$ とし, 一定量の ANS を加

え 50°C で 40 分間静置したのちのテンサンメトリー波高から亜硝酸イオン濃度を定量する方法について検討した。

2 試薬および装置

2.1 試 薬

1-アミノ-2-ナフトール-4-スルホン酸: ANS は東京化成製特級試薬をそのまま用いた。原液は使用のつど精秤し, 沸騰した再蒸留水に溶解させて $2 \times 10^{-3} \text{ mol/l}$ 溶液を調製した。

亜硝酸イオン標準溶液: 試薬特級亜硝酸ナトリウム 0.690 g をとり, 水酸化ナトリウム 0.5 g とともに再蒸留水に溶解して 1 l とし, 10^{-2} mol/l 溶液を調製した。標定は Griess-Romijin 試薬法にしたがって 520 nm の吸収から求め, 使用のつど希釈して 10^{-4} mol/l 溶液として用いた。

緩衝溶液: 測定には主として 0.025 mol/l フタル酸水素カリウム-過塩素酸緩衝溶液を用いた。

2.2 装 置

ポーラログラムは柳本製ポーラログラム PA 101 型を使用した。滴水銀電極の特性は既報¹⁾のものと同じである。交流ビーク電位は飽和甘コウ電極を対極とした H 型セルを用い, $1000 \mu\text{F}$ のプルコンデンサーで交流的に短絡して測定した。

酸化反応速度は液温に強く影響されるので波高測定および酸化時間中はそれぞれ $30 \pm 0.1^\circ\text{C}$ および $50 \pm 0.1^\circ\text{C}$ の恒温槽中で行なった。

pH 滴定は日立堀場製 F-7 型 pH メーターを用いた。ANS の溶解度が比較的小さいため 10^{-3} mol/l 溶液を作成し, 滴定前 30 分および滴定中窒素ガスを通気しながら 0.1 mol/l 水酸化ナトリウムで滴定した。

* 名古屋工業大学, 466 名古屋市昭和区御器所町

1) 野村 毅, 日化, 1976, 99.

2) 野村 毅, 中川元吉, 分析化学, 26, 186(1977).

3) T. Nomura, G. Nakagawa, *Talanta*, 24, 467(1977).

4) F. D. Snell, C. T. Snell, "Colorimetric Methods of Analysis", Vol. 1, van Nostrand (1944) p. 644.

5) JIS K 0102-1974.

IR スペクトルの測定には日本分光製 IR-E 型赤外分光光度計を用い、すべて臭化カリウム錠剤法を用いた。また、NMR スペクトルは日立製 R-20 B(60 MHz) 型を用い、溶媒として重水素化ジメチルスルホキシド ($\text{DMSO}-d_6$) を、内部標準物質として TMS を用いた。

3 結果と考察

3.1 ANS およびその酸化生成物の電気化学的挙動

3.1.1 ポーラログラフの挙動： $2 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$ ANS を含む 0.025 mol/l フタル酸水素カリウム-過塩素酸緩衝溶液 (pH 2.0) 中で亜硝酸イオン濃度 $2 \times 10^{-6} \text{ mol/l}$ 、液温 50°C で40分間放置後のポーラログラフ波を図1に示した。

ANS はそれ自身直流および交流波を示さず、また $\text{pH} < 4$ で

Fig. 1 D.C. and A.C. polarograms

Potassium hydrogen phthalate- HClO_4 buffer (0.025 mol/l , pH 2.0), ANS: $2 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$, NO_2^- : $2 \times 10^{-6} \text{ mol/l}$, Standing time: 40 minutes, Temp.: 50°C
1: D.C. polarogram, 2: A.C. polarogram, 3 and 4: D.C. and A.C. polarogram of blank solution

Fig. 2 Temperature dependence of A.C. peak height

1: A.C. peak height of oxidation product
2: A.C. peak height of blank solution

は3時間程度では溶存酸素による酸化も比較的少ない。しかし微量の亜硝酸イオンの共存によって急速に酸化されて、 $+0.02 \text{ V vs. SCE}$ 付近 (図6参照) に高感度の交流波が得られる。交流波高の得られる電位でそれに対応する直流波は非常に小さなものが得られるが、ANS 濃度を $2 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$ とし pH 2.0 から 7.0 の間変化させて酸化した場合も、pH 2.0 で ANS 濃度を 10^{-5} mol/l から $7 \times 10^{-4} \text{ mol/l}$ に変えて酸化させた場合にも直流波高には大きな変化が認められなかった。また pH 2.0 で得られる交流波高の温度依存性 (図2) は 50°C を最大とする山型を示し、高温ではかえって波高の低下がみられた。

Fig. 3 Drop time curves

$\text{KNO}_3\text{-HNO}_3$ solution: 0.5 mol/l (pH 2.0)

Standing: One week

Concentration of ANS (mol/l) —

1: ~ 0 , 2: 2×10^{-4} , 3: 6×10^{-4} , 4: 10^{-3} ,
5: $\geq 2 \times 10^{-3}$

Fig. 4 IR spectra of ANS and oxidation product of ANS

—: ANS
---: Oxidation product

Fig.5 NMR spectra of oxidation product of ANS (A) and substitution with deuterium oxide (B)

3.1.2 電気毛管曲線: 0.5 mol/l 硝酸カリウム-硝酸溶液 (pH 2.0) 中に種々の濃度の ANS を加え 1 週間放置して酸化したものの電気毛管曲線を図 3 に示す。滴下時間は ANS 濃度の増加とともに低くなり、ほぼ 2×10^{-3} mol/l 以上で一定値を示す。また -1.1 V 以上の電位では ANS 濃度に関係なく一定値となり、電気毛管零電位のほぼ正側で滴下時間の低下がいちじるしい。これはベンゼン環を含む化合物の電気毛管曲線に多く現われ、 π 電子の寄与した、いわゆる Gerovich の提唱した吸着型⁶⁾であることを示している。

以上の検討から、ANS の酸化によって得られる交流波は酸化生成物の吸着に起因するテンサンメトリー波⁷⁾であると予想できる。

3.2 ANS の酸化反応

ANS 水溶液を放置すると溶存酸素により酸化されて最初は赤褐色溶液となり、順次黒褐色沈殿生成に移行する。そこで測定に使用する ANS 酸化生成物は ANS の飽和溶液を 1 週間開放で空気を吹き込んで酸化したのち温浴上で注意深く濃縮させ、その残留物を熱水で洗浄し、メタノール溶液から再結晶させて作製した。結晶は深赤色を示し、融点は 207°C であった。

3.2.1 赤外吸収スペクトル: ANS およびその酸化生成物の赤外吸収スペクトルを図 4 に示す。ANS はフェノール性ヒドロキシル基の δ_{OH} が 1350 cm^{-1} に、 ν_{OH} が 3240 cm^{-1} に得られ、1,2,4-置換ナフタレン環およびスルホン酸に対応する吸収が得られた。しかしその酸化生成物のスペクトルからはヒドロキシル基の吸収は認められず、 1700 cm^{-1} に $\nu_{C=O}$ に起因する新しい吸収が現われた。また両方のスペクトルから 1610 cm^{-1} に δ_{NH_2} があり、2800 から 3000 cm^{-1} 付近の吸収からもアミノ基に変化がないことが予想される。

3.2.2 NMR スペクトル: ANS はスルホン基およびヒドロキシル基をもつため DMSO- d_6 その他多くの有機溶媒に溶解しないが、その酸化生成物は DMSO- d_6 によく溶解するので 5% 溶液を調製し、NMR スペクトルを測定した(図 5)。スペクトル(B)

は試料に少量の重水を加えてふったのちに得られたものである。

スペクトル(A)において各ピークの帰属を強度比などから検討した結果、2.5 ppm のピークは DMSO- d_6 中の不純物のメチル基によるものであり、4.1 ppm は吸着水のピークではないかと考えた。また 7.1~8.5 ppm にわたる多くのピークはナフタレン環の 5 個のプロトンによるものであり、重水置換によって消えるところから 6.3 ppm のピークは NH プロトンによるものと考えた。

3.2.3 ANS の酸化過程: 10^{-3} mol/l ANS 溶液を窒素気流中で 0.1 mol/l 水酸化ナトリウムで pH 滴定した結果、スルホン酸の中和に対応するところから pH の大きな飛躍 (pH 4.0→8.5) を示した。その滴定曲線から ANS の酸解離定数として pK_1 3.57, pK_2 9.25 が得られた。

以上の結果から、IR スペクトルからは ANS のヒドロキシル基が酸化によってケトン生成したことが認められ、元素分析および NMR スペクトルからはアミノ基が未反応で残り、硝酸によって酸化した場合⁸⁾ のような高酸化状態 (1,2-ナフトキノン-4-スルホン酸) にはならないことを示している。ANS およびその酸化生成物の IR スペクトルに大きな差異が認められないことから二量体生成反応はないものと考えて、pH 2.0 で亜硝酸イオンによる ANS の酸化反応を式(1)により進行するものと予想した。

分析値 C 50.04%, H 3.08%, N 5.87%, S 14.01%

化合物 [1] の計算値 C 50.20%, H 3.79%, N 5.85%, S 13.40%

化合物 [2] の計算値 C 50.63%, H 2.97%, N 5.90%, S 13.51%

3.3 ANS 酸化生成物のテンサンメトリー波を用いる亜硝酸イオンの定量

3.3.1 pH の影響: 2×10^{-4} mol/l ANS を含むフタル酸水素カリウム緩衝溶液中に 2×10^{-6} mol/l 亜硝酸イオンを加え過塩素酸で pH を 1.0 から 4.5 まで変化させ、50°C で 40 分間放置したのちのテンサンメトリー波高、そのピーク電位および波高のブランク値を図 6 に示した。

pH 1.8~2.2 の間ではほぼ一定波高の交流波が得られた。

3.3.2 反応時間および温度の影響: 2×10^{-4} mol/l ANS を含む 0.025 mol/l フタル酸水素カリウム-過塩素酸緩衝溶液中に 2×10^{-6} mol/l 亜硝酸イオンを加え反応温度 30, 50, 70°C で溶液調製直後から 2 時間の間でのテンサンメトリー波高 (ブランク値差し引き) を図 7 に示した。

50°C で行なった場合 40 分以上放置すればほぼ一定波高を示した。

3.3.3 ANS 濃度の影響: 0.025 mol/l フタル酸水素カリウム-過塩素酸緩衝溶液 (pH 2.0) 中で一定亜硝酸イオン濃度 (2×10^{-6}

6) M. A. Gerovich, Dokl. Akad. Nauk SSSR, 96, 543 (1954).

7) B. Breyer, S. Hacobian, Aust. J. Sci. Res., A 5, 500 (1952).

8) 日本化学会編, “新実験化学講座 (酸化と還元 I-2)”, 丸善 (1976) p. 782.

mol/l) とし, ANS 濃度を 3×10^{-5} mol/l から 5×10^{-4} mol/l ま
で変化させて波高を測定したところ, 2×10^{-4} mol/l を越えると
しだいにブランク値が大きくなり, また ANS の溶解度が小さい

ことから 2×10^{-4} mol/l 濃度が最適であった。

3.3.4 亜硝酸イオンの定量法: 50 ml メスフラスコに亜硝酸
イオンが $1.5 \sim 10 \mu\text{g}$ の間になるようにとり, 0.25 mol/l フタ

Fig. 6 Effect of pH on the A.C. wave height and peak potential

Potassium hydrogen phthalate- HClO_4 buffer: 0.025 mol/l, ANS: 2×10^{-4} mol/l, NO_2^- : 2×10^{-6} mol/l

1: A.C. wave height, 2: A.C. peak potential, 3: A.C. wave height of blank solution

Fig. 7 Effect of reaction temperature and standing time on the A.C. wave height

Potassium hydrogen phthalate- HClO_4 buffer: 0.025 mol/l (pH 2.0), ANS: 2×10^{-4} mol/l, NO_2^- : 2×10^{-6} mol/l

Reaction temperature ($^{\circ}\text{C}$) —
(1): 50, (2): 30, (3): 70

Table 1 Effect of diverse ions

Ion	Concn. of Interferent (mg/50 ml)	NO_2^- found (μg)	Recovery (%)
—	—	4.60	100.0
Ag^+	0.5 ^{a)}	4.73	102.8
Cu^{2+}	0.3 ^{b)}	4.77	103.7
Hg^{2+}	0.5 ^{b)}	4.57	99.3
Ca^{2+}	2.0	4.71	102.3
Al^{3+}	1.35	4.78	103.9
Fe^{3+}	0.06	5.21	113.3
	0.03	4.90	106.5
V^{5+}	0.2 ^{b)}	4.66	101.3
NH_4^+	50	4.84	105.2
NO_3^-	160	4.73	102.8
OAc^-	150	4.77	103.7
Cl^-	90	4.70	102.2
ClO_3^-	42	4.85	105.4
CNS^-	1.2	4.61	100.2
F^-	9.5	4.75	103.3
SO_3^{2-}	4.0	1.19	25.8
	0.4	4.72	102.6
SO_4^{2-}	240	4.55	98.9
HPO_4^{2-}	25	4.52	98.3
Na tartrate	12	4.54	98.7
Starch	25	3.30	71.7
	10	4.55	98.9
Methanol	5	4.57	99.3
Acetone	5	4.66	101.3
Glycine	38	4.54	98.7
Ethylenediamine	9.0	4.50	97.8
Dimethylamine	22.5	4.76	103.5
ABS detergent	2.5	4.53	98.5

a) Contain 0.01 mol/l NaCl.

b) Contain 10^{-3} mol/l EDTA.

ル酸水素カリウム-過塩素酸緩衝溶液 (pH 2.0) 5 ml および必要があれば 0.01 mol/l EDTA 5 ml を加えて約 42~43 ml とし、 $50 \pm 0.1^\circ\text{C}$ の恒温槽中に約 10 分間入れたのち、 2×10^{-3} mol/l ANS 溶液 5 ml を入れて標線までうすめる。これを同じ恒温槽中で 40 分間静置したのち、スパン電圧 1 V で $+0.2 \sim -0.4$ V の間の交流ポーログラムをとり検量線から亜硝酸イオン濃度を求める。亜硝酸イオン濃度が $0.03 \mu\text{g/ml}$ から $0.3 \mu\text{g/ml}$ の間で検量線はよい直線性を示し、精度も良好であった。

3.3.5 共存イオンの影響: $4.60 \mu\text{g}/50 \text{ ml}$ の亜硝酸イオンを含む溶液中に各種イオンを共存させて測定した波高から求めた共存イオンの影響を表 1 に示す。 10^{-3} mol/l 程度の EDTA 添加は波高にはほとんど影響しないので 0.3 mg 程度の銅、水銀、バナ

ジウムの共存は EDTA 添加により妨害を除くことができる。またアミノ酸、デンプン、アルコール類および非イオン活性剤などの各種有機物は多少共存しても妨害とならない。主たる妨害イオンとしてモリブデン(VI)、タングステン(VI)、クロム(VI)、鉄、亜硫酸イオンがあるがアルミニウム、ビスマス、銅、水銀、銀、過塩素酸塩、アンモニウム塩など Griess-Romijn 試薬法で妨害となるイオンの妨害は少なく、操作も簡単で同程度の感度で分析することができた。

研究費の一部は文部省科学研究費補助金によった。付記して感謝の意を表する。

(1977 年 10 月, 日本分析化学会第 26 年会(一部)講演)

Determination of Microgram Amounts of Nitrite Ion using a Tensammetric Wave of the Oxidation Product of 1-Amino-2-naphthol-4-sulfonic Acid

Tsuyoshi NOMURA and Genkichi NAKAGAWA

*Nagoya Institute of Technology; Gokiso-cho, Showa-ku,
Nagoya-shi 466 Japan*

1-Amino-2-naphthol-4-sulfonic acid (ANS) is polarographically inactive in the pH range from 0.8 to 12, but its oxidation product gives a sensitive A.C. wave, just as in the case of *o*-aminophenol. ANS is oxidized slowly with dissolved oxygen in the pH range from 1.5 to 3, whereas it is very rapidly oxidized in the presence of chromate, permanganate and nitrite ion in the same pH range. Therefore, the sensitive A.C. wave of the oxidation product of ANS was utilized for the determination of microgram amounts of nitrite ion.

Drop time curves, temperature coefficients of the A.C. wave height and the D.C. wave height at potentials where the A.C. wave occurs indicates that the A.C. wave has a tensammetric nature. The infrared spectra, NMR spectra and ultimate analysis of the oxidation product of ANS supports that ANS is oxidized with nitrite ion according to equation 1.

The optimum conditions for the determination of nitrite ion were as follows: potassium hydrogen phthalate- HClO_4 buffer: 0.025 mol/l, ANS: 2×10^{-4} mol/l, standing time: 40 minutes, pH: 2.0, temperature: 50°C . A linear calibration curve was obtained over the concentration range between 0.03 and $0.3 \mu\text{g/ml}$ of nitrite ion with good reproducibility. Mo(VI), W(VI), Cr(VI), SO_3^{2-} and Fe(III) interfere, but a small amounts of Al(III), Bi(III), Cu(II), Hg(II), Ag(I), ClO_4^- , NH_4^+ and some of organic substances such as amino acid, starch, methanol and nonionic detergent which shows interference with Griess-Romijn method do not cause interference with this method.