

## 技術報告

## 新規ガス透過装置の試作とそれを用いるフローインジェクション分析法による天然水中の総炭酸及びアンモニア態窒素の吸光光度定量

真田 昌宏, 大島 光子, 本水 昌二<sup>®\*</sup>

(1993年3月17日受理)

今回新たに多孔質 PTFE (polytetrafluoroethylene) チューブを分離膜とするガス透過装置を試作し、その性能について総炭酸定量用 FIA 装置を用いて検討した。新しいガス透過装置は組み立てが簡単で、前回製作のものに比べ、約 10% の感度向上が達成され、更にピークのテイリングも減少した。本装置を組み込んだ FIA により環境水中の総炭酸、アンモニア態窒素の定量が可能である。いずれの場合も pH 変化に伴うクレゾールレッドの呈色変化を測定に利用した。本法によれば多孔質ガス透過チューブ長 8 cm のとき、 $172 \text{ mg dm}^{-3}$  ( $4 \times 10^{-3} \text{ mol dm}^{-3}$ ) 以下の総炭酸を 1 時間当たり 20 試料、 $3.6 \text{ mg dm}^{-3}$  ( $2.6 \times 10^{-4} \text{ mol dm}^{-3}$ ) 以下のアンモニア態窒素を 1 時間当たり 30 試料の速さで測定できた。この際の検出限界 ( $S/N=3$  に相当) は総炭酸の場合、 $0.96 \text{ mg dm}^{-3}$  ( $2 \times 10^{-5} \text{ mol dm}^{-3}$ )、アンモニア態窒素の場合は  $30 \text{ } \mu\text{g dm}^{-3}$  ( $2 \times 10^{-6} \text{ mol dm}^{-3}$ ) であった。

### 1 緒 言

FIA におけるガス透過法は、目的物質 (主に気体) を多孔質 PTFE (polytetrafluoroethylene) 膜を透過させた後、定量する方法である。室温では気体になりやすい化学種が限られているため、非常に選択性の高い有用な方法である。著者らはこれまでにチューブ型多孔質 PTFE 膜を使用したガス透過装置を製作し、総炭酸<sup>1)</sup>、アンモニア態窒素<sup>2)</sup>、残留塩素<sup>3)</sup>、ヨウ素 (過酸化水素及びグルコース)<sup>4)</sup> などの室温で膜透過物質になりやすいものに応用した。Aoki らは、ガラス管及び接着剤を使用したガス透過装置を製作し、オゾン<sup>5)</sup>、残留塩素<sup>6)</sup>、アンモニア<sup>7)</sup>、全有機炭素<sup>8)</sup> の定量に応用している。更に Nagashima らも、硝酸、亜硝酸の定量に応用している<sup>9)</sup>。しかし、接着剤を使用するということは製作の煩雑さ、接続部から液漏れしやすいという欠点がある。これに対し、著者らが既報で使用したガス透過装置<sup>1)~4)</sup> はいずれも接着剤を使用する必要がないが、加工に技術を必要としたり、又デッドボリュームの存在のためピークがブロードとなり、テイリングが大きくなった。そこで今回はこれらの欠点を改良したガス透過装置

を設計、試作した。近年、重大な環境問題の一つとして大気中の二酸化炭素濃度の増加による温暖化現象がある。地球上での二酸化炭素循環には、大気-海水間における相互溶解平衡が重要な役割を果たしている。これに関連し、河川水、海水、環境水に含まれる二酸化炭素量を正確に測定するための簡便な方法の開発が強く望まれている。一方河川や湖沼においては窒素やリンが原因と思われる水質汚染が問題となっている。アンモニア態窒素は、多くの場合、タンパク質のような有機窒素化合物の分解により生じる。又工場排水、下水などの混入により生じる場合も多く、水質汚濁の有力な指標となる。アンモニア態窒素の定量法としてはネスラー法<sup>10)</sup>、インドフェノール法<sup>10)</sup> などがあがるが、これらの測定方法では、水銀の使用による廃液処理、濃縮操作の必要性などの問題がある。その点、ガス透過法は操作が簡単であり、共存物質の影響もほとんど無視できる。そこで本研究では新たに試作したガス透過装置を用いて河川水、海水中の総炭酸、アンモニア態窒素の定量も検討した。

### 2 実 験

#### 2・1 装 置

2・1・1 ガス透過装置 著者らがこれまでに製作したガス透過装置と今回製作した装置を Fig. 1 に示す。

\* 岡山大学理学部: 700 岡山県岡山市津島中 3-1-1

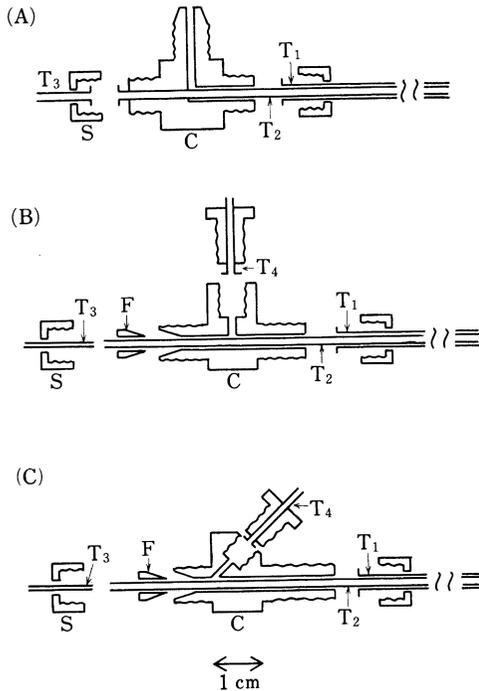


Fig. 1 Gas diffusion units

T<sub>1</sub>: PTFE tubing (2.0 mm i.d.); T<sub>2</sub>: tubular microporous PTFE membrane (Gore-Tex TA001, 1.0 mm i.d., 1.8 mm i.d., pore size 2.0 μm, porosity 50%); T<sub>3</sub> and T<sub>4</sub>: PTFE tubing (0.5 mm i.d.); C: connector made of CTFE (polychlorotrifluoroethylene); F: PTFE ferrule; S: screw-cap

これらの装置はすべて接着剤を用いることなく組み立てられている。ガス透過部は二重管構造になっており、内管を試薬液が、外管をキャリアー液が流れるようになっている。組み立ててに使用したチューブは、外管は内径 2.0 mm, 外径 3.0 mm の PTFE チューブ, 内管は内径 1.0 mm, 外径 1.8 mm, 気孔率 50%, 最大孔径 2.0 μm のジャパングアテックス製多孔質 PTFE チューブである。又ガス透過部との接続, 及び他の流路には、内径 0.5 mm, 外径 1.4 mm の PTFE チューブを用いた。

Fig. 1 の (A) は総炭酸<sup>1)</sup>及びアンモニア態窒素定量 FIA<sup>2)</sup>に使用した装置の接続部である。これは多孔質 PTFE チューブと PTFE チューブの接続部を互いにフランジ型に加工して接続するため、組み立てに技術を要した。(B) は (A) を改良し残留塩素<sup>3)</sup>及び過酸化水素定量 FIA<sup>4)</sup>に使用した装置であり、接続はフェラルによ

る締め付けのみのため、簡単に組み立てができ、内管の交換が容易である。しかし T 型コネクターに若干のデッドボリュームが存在しているためピークが少しブロードとなり、テイリングが大きくなった。(C) が今回新たに設計、試作した装置である。(B) の T 字コネクター部を改良し、キャリアーの流れをガス透過チューブに対し、斜め (45°) にすることで、(B) のデッドボリュームを減少させることができた。(B) と同様、接続はフェラルによる締め付けのみであり、組み立ては非常に簡単である。なお、(B), (C) において、内管 T<sub>2</sub> の両端を加熱した金属棒 (例えば外径 1.5 mm, 長さ 15 mm 程度のクギ) を挿入して少し径を大きくした後、外径 1.4 mm の PTFE チューブ T<sub>3</sub> を挿入し、フェラル F を締め付けることにより密着させた。

**2・1・2 流路** アンモニア態窒素定量に使用した FIA の流路系を Fig. 2 に示す。既報のアンモニア態窒素定量法<sup>2)</sup>では指示薬としてチモールブルーを用いているが、徐々に退色が起こりベースラインが一定になりにくかったので、指示薬として新たにクレゾールレッドを用いた。なお、キャリアーの水酸化ナトリウム溶液、及び試薬瓶には、空気中の二酸化炭素の影響を妨ぐために、ソーダライム吸収管を取り付けた。ポンプはサスキ工業製ダブルプランジャー型ポンプ (DM2M-1024 型) を用い、キャリアー液、試薬溶液共に流量 0.8 ml min<sup>-1</sup> で送液した。ガス透過装置のキャリアー流れ側の下流には、流れに圧力がかからないように、内径 1.0 mm の PTFE チューブを用いた。吸光度の測定には相馬光学製波長可変可視検出器 S-3250 を使用し、波長

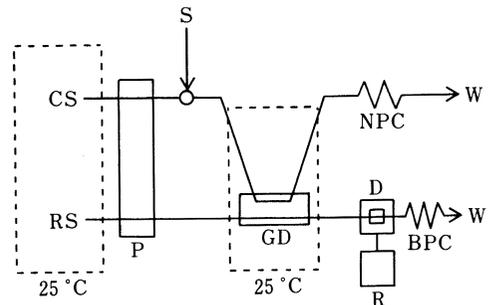


Fig. 2 Schematic diagram of flow system for ammoniacal nitrogen

CS:  $1.0 \times 10^{-2}$  M NaOH; RS:  $4 \times 10^{-4}$  M HEPES +  $1.25 \times 10^{-4}$  M Cresol Red (pH 7.0); GD: gas-diffusion unit; S: sample injection; P: pump; D: detector (550 nm); R: recorder; BPC: back pressure coil; NPC: non-pressure coil; W: waste

550 nm で吸光度変化を測定した。なお総炭酸の定量は既報<sup>1)</sup>と同じ流路を使用した。

## 2.2 試薬

**2.2.1 総炭酸定量用試薬** 既報<sup>1)</sup>と同様に, キャリヤーには  $1.8 \times 10^{-3}$  M ( $1 \text{ M} = 1 \text{ mol dm}^{-3}$ )  $\text{H}_2\text{SO}_4$  を, 試薬液には  $1.25 \times 10^{-4}$  M クレゾールレッドと  $10^{-3}$  M 炭酸水素ナトリウムを含む溶液を塩酸で pH 9.0 に調整したものをを用いた。

**2.2.2 アンモニア態窒素定量用試薬** キャリヤー液: 水酸化ナトリウム 4g を超純水に溶かし 1 l としたものを保存液とし, 使用時に 10 倍に希釈して用いた (約  $10^{-2}$  M)。

試薬液: 総炭酸定量用と同じクレゾールレッド保存液 ( $2.5 \times 10^{-2}$  M, 0.1 M NaOH 溶液) 5 ml と  $10^{-2}$  M HEPES (*N*-2-hydroxyethylpiperazine-*N'*-2-ethanesulfonic acid) 溶液 40 ml を混合し, 塩酸を用いて pH 7.0 に調整した後, 超純水で 1 l とした。試薬液中の濃度はクレゾールレッド  $1.25 \times 10^{-4}$  M, HEPES  $4.0 \times 10^{-4}$  M, pH 7.0 である。

## 3 結果及び考察

総炭酸の定量はガス透過装置を除き既報<sup>1)</sup>と同条件で行った。ここでは, アンモニア態窒素の測定条件についてクレゾールレッドを用いて新たに検討した結果を述べる。

### 3.1 ガス透過装置の性能の比較

総炭酸定量 FIA を用いて, 今回新たに試作したガス拡散装置 (Fig. 1, C) と既報<sup>3,4)</sup>のガス拡散装置 (Fig. 1, B) による, ピーク形状を比較した。その結果を Fig. 3 に示す。デッドボリュームの大きいタイプ (B) と比較したところ, 面積比は  $B_a : C_a = 100 : 97$  ( $B_a, C_a$  は Fig. 3 のピーク (a), (b) の面積) であるのに対し, ピーク高さ比は  $B_h : C_h = 100 : 112$  ( $B_h, C_h$  はピーク (a), (b) のピーク高さ) となり, タイプ (C) でシャープなピークが得られた。又タイプ (B) ではピークのテリングが試料注入後 3.5 分まで続くのに対し, タイプ (C) では約 2.5 分後に終了している。なお, ガス透過部の有効長は 30 cm と 8 cm のものの 2 種類を作製し検討した。その結果 30 cm のものは 8 cm のものに比べピーク高は約 60% 高くなるもののピーク幅は約 2 倍になり, 測定時間も 8 cm のものの 2 倍程度必要となった。そこで以後の実験では測定時間の短縮のため 8 cm のものを使用した。

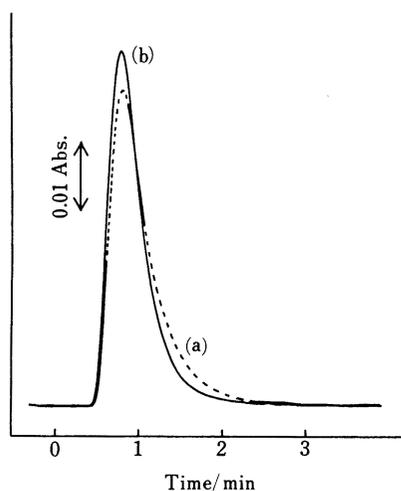


Fig. 3 Peak shapes obtained using the gas diffusion units

(a) previous gas-diffusion unit (dotted line)(ref. 3);  
(b) newly designed gas diffusion unit; Sample:  $10^{-3}$  M  $\text{NaHCO}_3$ ; Sample volume: 20  $\mu\text{l}$ ; Efficient length of gas diffusion membrane tubing: 8 cm

### 3.2 アンモニア態窒素定量用試薬液の検討

既報<sup>2)</sup>で使用したチモールブルー (酸解離定数  $pK_a = 9.2$ ) 溶液 (pH 8.4) を用いた場合, 大気中の二酸化炭素を吸収しやすく, 試薬の退色が著しく生じた。そのためベースラインのドリフトが起り長時間の測定に用いることができなかった。そこで総炭酸定量に用いたクレゾールレッド ( $pK_a = 8.3$ ) を新たに試薬液として使用することにした。なお, 測定波長は 550 nm を使用した。

### 3.3 アンモニア態窒素定量用の試薬液の試薬濃度及び pH の影響

**3.3.1 pH の影響** pH を 7.0~7.8 の範囲で変化させたところ, クレゾールレッドの  $pK_a$  である 8.3 に近いほど感度は上昇するもののベースラインの安定性が悪くなった。そこで pH は 7.0 を使用することにした。

**3.3.2 緩衝液の検討** pH 7.0 で緩衝液としてリン酸水素ナトリウム ( $pK_a = 7.2$ ) 及び HEPES ( $pK_a = 7.6$ ) について検討を行った。その結果, HEPES のほうがより安定なベースラインを与えることが分かったので HEPES を緩衝液として使用することにした。更に, pH 調整後試薬瓶内の空気を窒素置換することで,

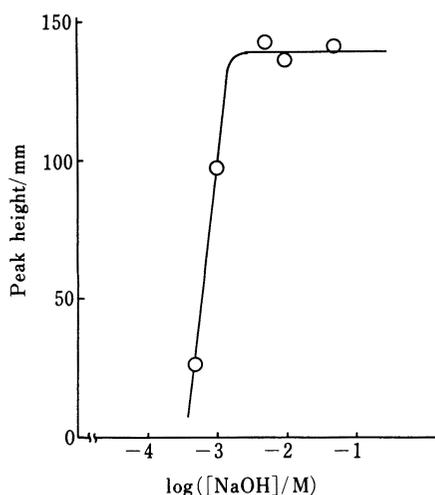


Fig. 4 Effect of sodium hydroxide concentration in carrier solution on the peak height

Sample:  $10^{-4}$  M  $\text{NH}_4\text{Cl}$

大気中の二酸化炭素の影響を防ぎ、より安定なベースラインを得ることに成功した。

**3・3・3 緩衝液濃度** HEPES の濃度を  $2 \times 10^{-4}$  M  $\sim 6 \times 10^{-4}$  M の範囲で検討したところ、高濃度となり緩衝能が高くなるとベースは安定するがピーク高は反対に低くなった。そこでベースの安定性と感度の両方を考慮し、 $4 \times 10^{-4}$  M を使用することにした。

#### 3・3・4 キャリヤー液中の水酸化ナトリウム濃度

キャリヤー液中の水酸化ナトリウムの濃度を、 $5 \times 10^{-4}$  M  $\sim 5 \times 10^{-2}$  M の範囲で検討した結果を Fig. 4 に示す。水酸化ナトリウムの濃度が  $5 \times 10^{-3}$  M 以上でピーク高が一定となった。そこで水酸化ナトリウムの濃度は  $1.0 \times 10^{-2}$  M を使用することにした。

#### 3・4 アンモニア態窒素定量用の流路系

試料注入量を 50  $\sim$  280  $\mu\text{l}$  の範囲で検討した。この範囲では分析速度は 1 試料当たり 2 分で、注入量が多くなってもほとんど変わらなかった。そこで試料注入量は最も感度の高い 280  $\mu\text{l}$  とした。又ガス透過に対して温度の影響は無視することができない。そこでキャリヤー液、試薬液の貯蔵瓶及びガス透過装置は 25°C の恒温槽に入れた。又、試料注入口には孔径 0.20  $\mu\text{m}$  のメンブランフィルターを取り付け、固形物を濾別した後注入することとした。本研究で新たに決定した諸条件を Table 1 にまとめて示す。

Table 1 Optimal conditions for the determination of ammoniacal nitrogen in water samples

Carrier solution	$1.0 \times 10^{-2}$ M NaOH
Reagent solution	$1.25 \times 10^{-4}$ M Cresol Red + $4 \times 10^{-4}$ M HEPES + HCl (pH 7.0)
Sample volume	280 $\mu\text{l}$
Temperature of water bath	25°C
Effective length of gas permeation unit	8 cm or 30 cm
Flow rate	0.8 ml/min
Detection	550 nm (path length 10 mm)
Back pressure coil	0.25 mm i.d. $\times$ 50 cm
Non-pressure coil	1.00 mm i.d. $\times$ 50 cm

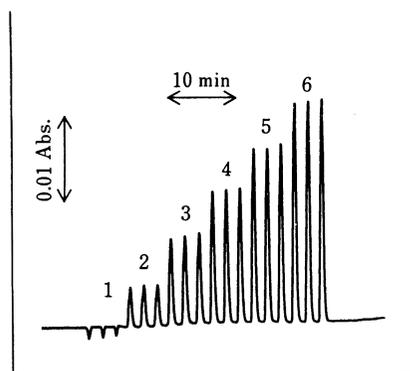


Fig. 5 Flow signals for ammoniacal nitrogen  $\text{NH}_4^+\text{-N}$   $\mu\text{g dm}^{-3}$ : (1) 0; (2) 112; (3) 224; (4) 336; (5) 448; (6) 560

#### 3・5 アンモニア態窒素定量用検量線

以上検討した条件下で、Fig. 2 に示すフロー系を用いて検量線を作成したところ、アンモニア態窒素濃度 3.6 ppm 以下の範囲で良好な直線性を示した。有効長 8 cm の透過装置を用いた場合 1 時間当たり 30 試料の測定が可能であった。又  $140 \mu\text{g dm}^{-3}$  のアンモニア態窒素を 8 回繰り返し定量したときの RSD は 4.5% であり、検出限界 ( $S/N=3$  に相当) は  $30 \mu\text{g dm}^{-3}$  であった。Fig. 5 に検量線用フローシグナル図の例を示す。なお、検出限界を下げるため pH を 7.25 に、測定波長を 574 nm に変更したところ、ベースラインのドリフトが激しくなり安定性がなくなった。しかし検量線は直線性を示し、検出限界は  $10 \mu\text{g dm}^{-3}$  となった。

Table 2 Effect of foreign ions

Ion	Added as	Concn./M	Recovery, %
None	—	—	100 <sup>†</sup>
Na <sup>+</sup>	NaCl	10 <sup>-1</sup>	103
Ca <sup>2+</sup>	CaCl <sub>2</sub>	10 <sup>-2</sup>	96
K <sup>+</sup>	KCl	10 <sup>-2</sup>	102
Mg <sup>2+</sup>	MgCl <sub>2</sub>	10 <sup>-2</sup>	90
		10 <sup>-3</sup>	95
Cl <sup>-</sup>	NaCl	10 <sup>-1</sup>	103
Br <sup>-</sup>	KBr	10 <sup>-2</sup>	102
I <sup>-</sup>	KI	10 <sup>-2</sup>	125
		10 <sup>-3</sup>	108
CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	10 <sup>-2</sup>	103
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	10 <sup>-2</sup>	105

† NH<sub>4</sub>Cl: 10<sup>-4</sup> M; Peak height 125 mm

Table 3 Determination of total CO<sub>2</sub> in water sample

Sample	Found/10 <sup>-4</sup> M	
	This work	(A)
Asahi River	5.8 ± 0.1 <sup>a)</sup>	4.0 <sup>b)</sup>
Yoshii River	4.2 ± 0.0 <sup>a)</sup>	4.0 <sup>b)</sup>
Takahashi River	10.1 ± 0.0 <sup>a)</sup>	7.7 <sup>b)</sup>
Sami Beach	19.8 ± 0.0 <sup>c)</sup>	
Uradome Beach	19.6 ± 0.0 <sup>d)</sup>	
Ako Point	13.9 ± 0.3 <sup>d)</sup>	

(A): previous work (ref. 1). Sampling date: a) September 20, 1992; b) May 5, 1986; c) August 25, 1992; d) August 24, 1992

### 3.6 アンモニア態窒素定量に及ぼす共存イオンの影響

共存イオンの影響について調べた結果を Table 2 に示す。マグネシウムイオン及びヨウ化物イオンが若干の妨害を与えることが分かった。しかし天然水中には、マグネシウムイオンは約 10<sup>-4</sup> M, ヨウ化物イオンはほとんど含まれていないために、実際の環境水などの測定時にはほとんど無視できる。

### 3.7 実際試料への応用

**3.7.1 環境水中の総炭酸の定量** 河川水, 海水中の総炭酸を定量した結果を Table 3 に示す。実際試料は

Table 4 Determination of ammoniacal nitrogen in water sample

Sample	Found (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/μg dm <sup>-3</sup> )
Asahi River	N. D. <sup>a)</sup>
Yoshii River	10 ± 5
Sasagase River <sup>b)</sup>	536 ± 14
Zasu River <sup>c)</sup>	453 ± 8

Sampling date: December 13, 1992; a) not detected; b) 4-fold dilution; c) 5-fold dilution.

注入口に孔径 0.20 μm のメンブランフィルターを取り付け、汙別後注入した。なお参考のため以前測定した結果<sup>1)</sup>を同時に示した。

**3.7.2 環境水中のアンモニア態窒素の定量** 環境水中のアンモニア態窒素を定量した結果を Table 4 に示す。総炭酸同様、実際試料は孔径 0.20 μm のメンブランフィルターで汙過後注入した。なお今回の測定法は感度の点で既報<sup>3)</sup>に若干劣るが、この点はガス透過装置の有効長を長くすることで改良できるものと思われる。

本研究の費用の一部は財団法人鉄鋼業環境保全技術開発基金研究助成金(第 12 回 3 鉄基金第 30 号)によった。同財団に深謝致します。

## 文 献

- 1) S. Motomizu, K. Tôci, T. Kuwaki, M. Oshima: *Anal. Chem.*, **59**, 2930 (1987).
- 2) 桑木 亨, 秋庭正典, 大島光子, 本水昌二: *分析化学*, **36**, T81 (1987).
- 3) S. Motomizu, T. Yoden: *Anal. Chim. Acta*, **261**, 461 (1992).
- 4) M. Oshima, M. Sanada, S. Motomizu: *J. Flow Injection Anal.*, **9**, 1 (1992).
- 5) 青木豊明, 大黒宏司: *分析化学*, **38**, 347 (1989).
- 6) T. Aoki, M. Munemori: *Anal. Chem.*, **55**, 209 (1983).
- 7) T. Aoki: *J. Flow Injection Anal.*, **5**, 2 (1988).
- 8) 青木豊明, 伊藤浩一, 宗森 信: *分析化学*, **37**, 133 (1987).
- 9) K. Nagashima, M. Matsumoto, S. Suzuki: *Anal. Chem.*, **57**, 2065 (1985).
- 10) "Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water", 14th ed., p. 407 (1976), (American Public Health Association, Washington, D.C.).



**Assembly of a new gas-diffusion unit and its application to the determination of total carbonate and ammoniacal nitrogen by FIA.** Masahiro SANADA, Mitsuko OSHIMA and Shoji MOTOMIZU (Department of Chemistry, Faculty of Science, Okayama University, 3-1-1, Tsushima-naka, Okayama-shi, Okayama 700)

A new gas-diffusion unit was constructed and applied to determine total carbonate or ammoniacal nitrogen in water by spectrophotometric FIA. The gas diffusion unit, which was constructed without any glue, could be assembled easily by fastening the screws to tee connectors with ferrules. The new gas-diffusion unit was improved to decrease the dead volume. The unit gave sharper peaks than the previous one, and peaks higher by 10% in the case of CO<sub>2</sub> determination. The gas-diffusion part consisted of an inner microporous polytetrafluoroethylene (PTFE) tube (GORE-TEX<sup>®</sup>, 1.0 mm i.d., 1.8 mm o.d., pore size 2.0 μm, porosity 50%) and an outer PTFE tube (2.0 mm i.d., 3.0 mm o.d.). Sample solution was injected into the carrier solution (CS), in which the analyte was converted to a gaseous substance which passed through the microporous PTFE membrane to be mixed with the reagent solution (RS) flowing in the space between the outer and the inner tubings. The resulting pH shift caused the color of the indicator in RS to change. The conditions for the determination of total carbonate are as follows; CS was  $1.8 \times 10^{-3}$  mol dm<sup>-3</sup> H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, RS contained Cresol Red (at pH 9.0) and the detection wavelength was 410 nm. The detection limit was 0.96 mg dm<sup>-3</sup> CO<sub>2</sub> ( $S/N=3$ ), the response was linear up to 172 mg dm<sup>-3</sup>, and the sampling rate was 20 h<sup>-1</sup>. For ammoniacal nitrogen, CS was 10<sup>-2</sup> mol dm<sup>-3</sup> NaOH, RS contained Cresol Red (pH 7.0) and absorbance was measured at 550 nm. The detection limit was 30 μg dm<sup>-3</sup> NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N ( $S/N=3$ ), the response was linear up to 3.5 mg dm<sup>-3</sup>, and the sampling rate was 30 h<sup>-1</sup>. Total carbonate and ammoniacal nitrogen in river and seawater samples were determined satisfactorily.

(Received March 17, 1993)

**Keyword phrases**

FIA with gas-diffusion unit; tubular microporous polytetrafluoroethylene; determination of total carbonate and ammoniacal nitrogen.

---