

Spectrophotometric determination of nitrite ion with *p*-aminoazobenzene. Minori KAMAYA and Tetsuro MURAKAMI (Department of Industrial Chemistry, Kogakuin University, 1-24-2, Nishi-Shinjuku, Shinjuku-ku, Tokyo 160)

Sensitive spectrophotometric method for the determination of nitrite ion with *p*-aminoazobenzene was investigated: A 5 ml of *p*-aminoazobenzene in acetic acid-methylcellosolve medium was added to 5~10 ml of aqueous solution of 2~12 μg of nitrite ion and the mixture was allowed to stand for 60 min at about 25 °C. The resulting solution was made alkaline by adding 5 ml of 2 M NaOH and diluted to 25 ml with methylcellosolve. The absorbance at 570 nm was measured against blank solution. Beer's law holds and the present method showed good reproducibility of relative standard deviation 1.2%, and the molar absorptivity was $6.90 \times 10^4 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Copper(II), tin(II) and sulfite, thiosulfate ion interfered with the determination of the analyte. The present method was applied for the determination of nitrite ion and nitrate ion in rainwater, and the results showed good agreement with those obtained with JIS method.

(Received September 26, 1986)

Keyword phrases

determination of nitrite ion with *p*-aminoazobenzene; spectrophotometric method; *p*-aminoazobenzene; diazotization and coupling reaction; nitrite ion in rainwater.

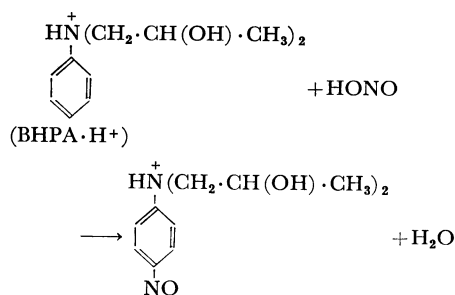
ニトロソ化反応を利用する硝酸イオンのフローインジェクション/吸光光度法

石 成瑞, 本水昌二[®], 桐栄恭二*

(1986年10月20日受理)

1 緒 言

硝酸イオンの吸光光度定量は、硝酸イオンの亜硝酸イオンへの還元、ジアゾ化-カップリング反応に基づいており、この原理は FIA/吸光光度法にも利用されてきた^{1)~6)}。最近、著者らは亜硝酸イオンのより単純な発色反応として、ニトロソ化反応を提案した⁷⁾。N,N-ビス(2-ヒドロキシプロピル)アニリン (BHPA) は酸性溶液中で次式のように亜硝酸と反応し、500 nm に吸収極大



を示す赤色生成物を与える。本研究は流路に還元カラムを組み込むことにより、硝酸を亜硝酸に還元後、上述のニトロソ化反応により発色させ、吸光光度定量する FIA について検討したものである。ジアゾ化-カップリング反応では、2 種類の反応試薬を必要とするのに対し、本法では市販の安価な反応試薬 1 種類でよく、又河川水に含まれる程度の硝酸イオンの定量には十分な感度を示す簡便な定量法である。

2 実 験

2.1 試 薬

硝酸イオン標準溶液：100~110 °C で乾燥した硝酸カリウムを水に溶解し、 $1.00 \times 10^{-3} \text{ M}$ 溶液とした。これを水で適宜正確に希釈して用いた。

反応試薬溶液：BHPA (東京化成工業製) 1.05 g を 5 ml の濃塩酸に溶解し、水で希釈して 500 ml にし、褐色瓶に貯蔵する。本貯蔵液 (0.01 M) は少なくとも 2 か月間は使用に耐える。反応試薬溶液としては、貯蔵液 40 ml, 3.5 M 塩酸 50 ml, 1.5 M リン酸 50 ml, 水 360 ml を混合したものを用いた。

キャリアー液： 10^{-3} M EDTA (二ナトリウム塩) 水溶液に 6 M 水酸化ナトリウム溶液を加えて pH 8.0~8.5 とした。

2.2 装 置

FIA 流路系を Fig. 1 に示す。送液はダブルブランジャー型ポンプ (サヌキ工業製, DM-2M-1024) で行い、試料溶液はループ付き六方バルブを用いて 120 μl を注入した。吸光度は 500 nm にて光路長 20 mm, 内径 1.5 mm のフローセル付き分光光度計 (島津 UV-140-02 型) にて測定し、記録計 (東亜電波工業, FBR-251A 型) に記録した。反応コイルは、発色反応速度を増すために 80 °C の恒温槽に浸し、冷却コイルは流水にて冷却した。その他の流路にもすべて内径 0.5 mm のテフロンチューブを用いた。

本 FIA による硝酸イオンの定量値は間接吸光検出/イオンクロマトグラフィーを用いてチェックした。これに用いた装置は東洋曹達工業製 HLC-803D 型ポンプ, UV-8000 型吸光光度検出器, TSKgel IC-Anion-PW である。

* 岡山大学理学部：700 岡山県岡山市津島中 3-1-1

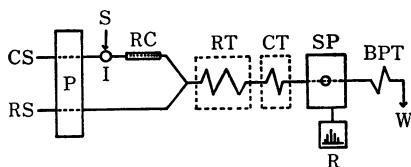


Fig. 1 Schematic diagram of flow system

CS: carrier solution (10^{-3} M EDTA, pH 8);
RS: reagent solution (8×10^{-4} M BHPA +
 0.35 M HCl + 0.15 M H_3PO_4); P: double
plunger pump (0.7 ml/min); I: injection
valve; S: sample (120 μ l); RC: reduction
column (Cu-Cd, 2 mm \times 30 cm); RT: reaction
tubing (2 m, 80 $^\circ$ C); CT: cooling tubing (0.5
m, water temperature); SP: spectropho-
tometer (500 nm); R: recorder; BPT: back
pressure tubing (0.25 mm \times 30 cm); W:
Teflon tubing: i.d. 0.5 mm

3 実験結果及び考察

3.1 実験条件の検討

本 FIA による硝酸イオンの定量法が、亜硝酸イオン
定量の FIA⁷⁾ と異なる最も大きな点は、還元カラムを
用いることと、定量範囲が高濃度となることである。

還元カラムは既報⁶⁾と同様に銅をコーティングしたカ
ドミウム (和光純薬工業製, 粒径約 0.5 mm) を詰めた
カラムを用いて検討した結果, 内径 2 mm, 長さ 30 cm
のテフロンチューブカラムを用いれば, 硝酸イオンの約
99% が還元されることが明らかになったので, 以後は
これを用いて実験を行った. 又, 既報⁶⁾と同様にキャリ
ャー液に EDTA を添加することにより, 硝酸の還元を
効率よく行うことができ, カラムの寿命も延びることが
分かった.

高濃度領域での定量に対応させるために試薬溶液組成
について検討した. BHPA 濃度の影響について調べた
結果を Fig. 2 に示す. Fig. 2 において, BHPA 濃度
が 8×10^{-4} ~ 1.2×10^{-3} M で検量線は硝酸イオン濃度が
 1.6×10^{-4} M までは直線性を示している. 以後の実験で
はベースラインの安定性も考慮し, 8×10^{-4} M を用いる
こととした.

3.2 分析速度と精度

硝酸イオンの低濃度域における検量用シグナルの一例
を Fig. 3 に示す. 検量線は上限 2×10^{-4} M までは原
点を通る直線となる. 本法での検出限界は $S/N=2$ に
おいて約 10^{-6} M であるが, 亜硝酸イオンと同様な反応
溶液組成⁷⁾で行えば検出限界は約 10^{-7} M となる. 環境
水の分析においては, このような高感度化は不必要で

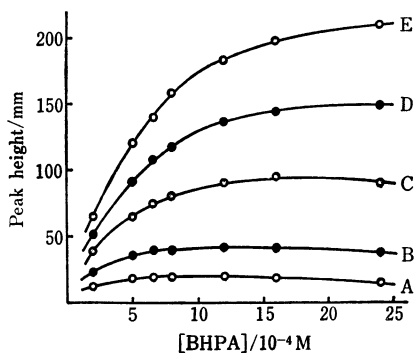


Fig. 2 Effect of *N,N*-bis(2-hydroxypropyl) aniline
concentration in reagent solutions

$[NO_3^-]/10^{-5}$ M: A=2; B=4; C=8; D=12;
E=16

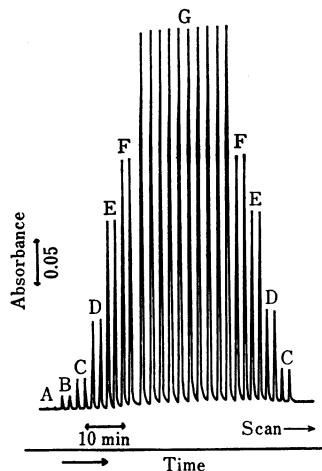


Fig. 3 Flow signals for nitrate

$[NO_3^-]/10^{-6}$ M: A=0; B=4; C=8; D=20;
E=40; F=52; G=80

あり, むしろ高濃度領域での分析が重要であろう. $8 \times$
 10^{-5} M の硝酸イオンを 10 回測定したときの相対標準
偏差は 0.4% であった. 又, 本法による分析速度は毎
時 40 試料であった.

3.3 共存イオンの影響

Table 1 に共存イオンの影響について調べた結果を示
す. この結果から通常の河川水, 湖沼水に含まれる程度
の共存イオンの影響は無視できる.

3.4 河川水中の硝酸イオンの定量

河川水中の硝酸イオンを本法で定量した結果と, イオ
ンクロマトグラフィーにより求めた値とを Table 2 に

Table 1 Effect of co-existing ions

Ion	Added as	Conc./ M	Peak height ratio
none			1.00
Na ⁺ , Cl ⁻	NaCl	10 ⁻²	1.02
K ⁺	KCl	10 ⁻²	1.01
SO ₄ ²⁻	Na ₂ SO ₄	10 ⁻²	1.00
Mg ²⁺	MgSO ₄	10 ⁻³	0.98
Ca ²⁺	CaCl ₂	10 ⁻³	0.97
HCO ₃ ⁻	NaHCO ₃	10 ⁻³	1.00
Al ³⁺	KAl(SO ₄) ₂	10 ⁻⁴	0.99
NH ₄ ⁺	NH ₄ Cl	10 ⁻⁴	1.00
SiO ₃ ²⁻	Na ₂ SiO ₃	10 ⁻⁴	0.99
Fe ³⁺	Fe ₂ (SO ₄) ₃ ·(NH ₄) ₂ SO ₄	10 ⁻⁵	1.01

NO₃⁻ : 4×10⁻⁵ M

Table 2 Determination of nitrate in river water

Sample	[NO ₃ ⁻]/10 ⁻⁵ M	
	This method	IC ^{a)}
Yoshii River ^{b)}	2.87	2.9
Suna River ^{b)}	8.62	8.3
Asahi River	A ^{c)}	2.88
	B ^{c)}	2.90
Sasagase River	A ^{c)}	0.75
	B ^{c)}	6.96
Zasu River ^{d)}		6.9
		3.32
		3.4

a) Ion chromatography⁸⁾, b) sampled on December 14, 1985, c) sampled on December 17, 1985, d) sampled on December 18, 1985.

示す。二つの分析値は良く一致している。なお、亜硝酸イオンも硝酸イオンと全く同様に反応するが、河川水中の亜硝酸イオンの存在量は普通硝酸イオンの1%以下であるので、その影響は無視できる⁷⁾。

文 献

- 1) L. Anderson : *Anal. Chim. Acta*, **110**, 123 (1979).
- 2) M. F. Giné, H. Bergamine F^o, E. A. G. Zagatto, B. F. Reis : *Anal. Chim. Acta*, **114**, 191 (1980).
- 3) K. S. Johnson, R. L. Petty : *Limnol. Oceanogr.*,

28, 1260 (1983).

- 4) J. Růžička, E. H. Hansen : *Anal. Chim. Acta*, **114**, 19 (1980).
- 5) J. F. V. Staden : *Anal. Chim. Acta*, **138**, 403 (1982).
- 6) S. Nakashima, M. Yagi, M. Zenki, A. Takahashi, K. Tōei : *Fresenius' Z. Anal. Chem.*, **319**, 506 (1984).
- 7) 本水昌二, 石 成瑞, 桐榮恭二 : 日本化学会中国四国支部大会講演予稿集, p. 129 (1985).
- 8) 本水昌二, 沢谷郁夫, 弘中孝志, 大島光子, 桐榮恭二 : 分析化学, **36**, 77 (1987).

☆

Spectrophotometric determination of nitrate ion using nitrosation/FIA. Shi CHENG RUI, Shoji MOROMIZU and Kyoji TōEI (Department of Chemistry, Faculty of Science, Okayama University, 3-1-1, Tushima-naka, Okayama-shi, Okayama 700)

N,N-Bis(2-hydroxypropyl)aniline(BHPA) reacts with nitrite ion in an acidic medium to form a red product, which has the maximum absorption at 500 nm. On the basis of this color reaction, FIA of nitrate was established. Nitrate ion could be reduced to nitrite ion by passing through the reduction column(2 mm×30 cm) packed with copperized cadmium{Cu(Cd): particle size, about 0.5 mm}, which was installed just behind the sample injection valve. The carrier solution(10⁻³ M EDTA, pH 8) and the reagent solution (8×10⁻⁴ M BHPA, 0.35 M HCl, 0.15 M H₃PO₄) were propelled at the flow rate of 0.7 ml/min by using a double-plunger pump. The sample(120 μl) was injected into the carrier stream by using a 6-way injection valve. The reaction coil(0.5 mm×2 m) was kept in a thermostatically controlled water bath(80 °C). The cooling coil(0.5 mm×50 cm), which was installed just behind the reaction coil, was kept in a water bath (tap water temperature). A calibration curve was linear up to 2×10⁻⁴ M nitrate. The detection limit corresponding to *S/N*=2 was 10⁻⁶ M nitrate, and the relative standard deviation (10 injections) was 0.4%, and the sampling rate was 40 samples per hour. Nitrate in river water at concentrations of 10⁻⁵ M level was determined.

(Received October 20, 1986)

Keyword phrases

FIA of nitrate; reduction of nitrate to nitrite on Cu (Cd) column; color reaction of nitrite with *N,N*-bis(2-hydroxypropyl)aniline.