

## 技術報告

## ガス拡散/フローインジェクション分析法による 水中のアンモニア態窒素の定量

桑木 亨， 秋庭正典， 大島光子， 本水昌二<sup>®\*</sup>

(1987 年 4 月 3 日受理)

水中のアンモニア態窒素のガス拡散/吸光光度 FIA について検討した。キャリアー液として水酸化ナトリウム溶液を用いることにより，試料中のアンモニウムイオンをガス状のアンモニアとし，多孔質ポリテトラフルオロエチレンチューブを使用したガス拡散装置で分離した。アンモニアガスはチモールブルー溶液に吸収させ，pH の変化を 596 nm で測定する吸光度の変化に変えて定量した。ガス拡散装置はフランジ型の接続方法を採用し，液漏れしにくいものを製作した。本法によれば 5 ppm 以下のアンモニア態窒素を 1 時間当たり 25 試料の速さで定量できた。又，検出限界は 2 ppb であり，20 及び 200 ppb のアンモニア態窒素の 9 回繰り返し定量の相対標準偏差はそれぞれ 3.8 及び 1.6% であった。環境水を FIA 装置に直接注入してアンモニア態窒素を定量した結果とマイクロケルダール蒸留法で不純物を取り除いた後本法で定量した結果は良く一致した。

### 1 緒 言

近年，窒素，リンが原因と思われる環境汚染が各地で問題となっている。アンモニア態窒素の定量にはネスラー法<sup>1)</sup>，インドフェノール法<sup>2)</sup>や，アンモニアによる蛍光物質の生成を利用する方法<sup>3)</sup>があり，それぞれ FIA にも応用されている<sup>4)~6)</sup>。しかし，これらの方法は，Hg の使用による廃液処理，濃縮操作の必要性，蛍光光度計の使用などの問題があった。そこで有害物質を使用せず，しかも濃縮操作の不要なガス拡散/吸光光度 FIA によるアンモニアの高感度分析法の開発を目的に本研究を行った。

既に Van Son らは，ポリテトラフルオロエチレン (PTFE) 膜を用いるガス拡散装置によるアンモニアの吸光光度検出 FIA を<sup>7)</sup>，Aoki らは多孔質 PTFE チューブを用いるガス拡散装置を製作し，アンモニアの蛍光光度定量法<sup>8)9)</sup>，残留塩素の定量法<sup>10)</sup>を報告している。Nagashima らも，多孔質 PTFE チューブを用いる硝酸及び亜硝酸の定量法を報告している<sup>11)</sup>。多孔質 PTFE チューブの使用は，平面状 PTFE 膜を用いる方法に比べ表面積が大きく，又長さを変えることにより更に効率

よくガス状物質を拡散させることができるという利点がある。しかし従来作製されたガス拡散装置では，ガラス管を用いたり，接着剤による接続法によるため長さを容易に変えることができず，接続部から液漏れしやすいという欠点があった。本報でも多孔質 PTFE チューブを用いてガス拡散装置を試作したが，これは接続に接着剤を使用しないため，自由な長さのものが容易に作製でき，接続部での液漏れもなく，実用的に大きな利点となった。本法での発色原理はプロモチモールブルーを用いる Van Son らの報告と同様であるが，本法はより高感度なチモールブルーを用いた。キャリアー液としては水酸化ナトリウム水溶液を用い，試料中のアンモニウムイオンをガス状のアンモニアとし，ガス拡散装置によりガス状アンモニアのみを分離し，酸-塩基指示薬を含む試薬溶液に吸収させ，指示薬の塩基型の吸光度の増加量を測定して定量した。本報で試作したガス拡散装置を用いれば，数 ppb オーダーのアンモニア態窒素も定量可能であり，Van Son らの方法より高感度であり汚染されていない日本の河川，湖沼への応用も可能である。

### 2 実 験

#### 2.1 装 置

FIA の流路系を Fig. 1 に示す。ポンプはサスキ工業

\* 岡山大学理学部：700 岡山県岡山市津島中 3-1-1

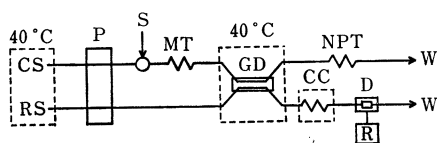


Fig. 1 Schematic diagram of flow system

CS: carrier solution ( $10^{-2}$  M NaOH); RS: reagent solution ( $1.5 \times 10^{-4}$  M Thymol Blue,  $4 \times 10^{-4}$  M  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , pH=8.4); P: double-plunger pump (0.9 ml/min); S: sample injection (140  $\mu$ l); MT: mixing tubing (0.5 mm  $\times$  40 cm); GD: gas-diffusion unit; CC: cooling coil (0.5 mm  $\times$  30 cm); NPT: nonpressure tubing (1 mm  $\times$  50 cm); D: detector (Soma S-3250, 596 nm); R: recorder; W: waste

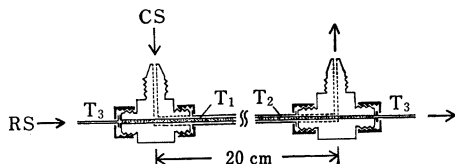


Fig. 2 Gas-diffusion unit

T<sub>1</sub>: Gore-Tex® tubing; T<sub>2</sub>: polytetrafluoroethylene (PTFE) tubing (i. d. 2.0 mm); T<sub>3</sub>: PTFE tubing (i. d. 0.5 mm)

製ダブルプランジャー型ポンプを用い、キャリアー液、試薬溶液共に流量 0.8 ml/min で送液した。試作したガス拡散装置を Fig. 2 に示す。拡散装置は、二重構造になっておりキャリアー液及び試薬溶液の流れは、濃縮効果とベースラインの安定性を考慮し内管を試薬溶液が、外管をキャリアー液が流れるようにした。内管は内径 1.0 mm、外径 1.8 mm、気孔率 50%、最大孔径 2.0  $\mu$ m の多孔質 PTFE チューブ (ゴアテックス® チューブ) を、外管は内径 2.0 mm、外径 3.0 mm の PTFE チューブを使用し実効長は 20 cm である。この 20 cm の間に、ガス状アンモニアのみが内管の細孔を通り抜け試薬溶液に吸収される。装置中の PTFE チューブとジョイント部分の接続、及び多孔質 PTFE チューブとジョイント部分の接続は液漏れを防ぐためにフランジ型の接続方法を採用した。ガス拡散装置の後のキャリアー流れは圧力がかからないように、径の大きい PTFE チューブ (ノンプレッシャーチューブ、内径 1.0 mm、50 cm) を連結した。又、ガス拡散装置とノンプレッシャーチューブ以外のチューブは内径 0.5 mm の PTFE チューブを使用した。検出器は 8  $\mu$ l のフローセルをもつ相馬光学製波長可変 FIA 検出器 S-3250 型を使用した。

## 2.2 試薬

キャリアー液: 水酸化ナトリウム 4 g を蒸留水に溶かし 1 l にしたものを 10 倍に希釈して用いた (約  $10^{-2}$  M)。

試薬溶液:  $10^{-2}$  M チモールブルーアルカリ水溶液

(0.47 g/0.1 M 水酸化ナトリウム水溶液 100 ml) 15 ml, 0.08 M リン酸水素二ナトリウム水溶液 ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  2.9 g/100 ml) 5 ml を混合し蒸留水で 1 l とした後にメンブランフィルター (0.45  $\mu$ m) で濾過し、塩酸で pH を 8.4 に調整したものを用いた。

標準溶液: 市販特級塩化アンモニウム (和光純薬工業製) を減圧下 (50 mmHg) 50 °C で 6 時間乾燥し、蒸留水に溶かして  $2 \times 10^{-2}$  M とした。使用に際してはこれを適宜希釈して用いた。

## 3 結果及び考察

### 3.1 測定波長

測定波長は、指示薬の酸型の吸光度と塩基型の吸光度の差が最も大きい 596 nm を用いた。

### 3.2 キャリヤー液中の水酸化ナトリウムの濃度

キャリアー液中の水酸化ナトリウムの濃度を、 $3 \times 10^{-4} \sim 1 \times 10^{-1}$  M の範囲で検討した結果を Fig. 3 に示す。水酸化ナトリウムの濃度が  $5 \times 10^{-3}$  M 以上でピーク高さは一定となった。しかし濃度が高くなると、多孔質 PTFE チューブを通過したわずかな液漏れでもベースラインに悪影響を与えやすいため、水酸化ナトリウムの濃度は  $1 \times 10^{-2}$  M を用いた。

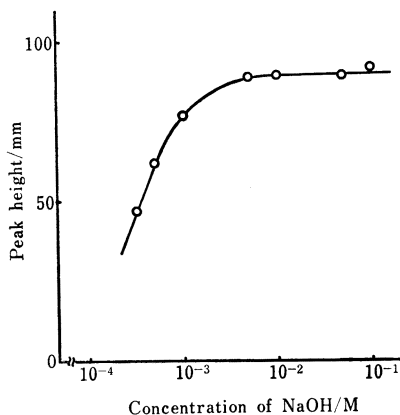


Fig. 3 Effect of sodium hydroxide in carrier solution on the peak height

Sample:  $4.0 \times 10^{-5}$  M  $\text{NH}_4\text{Cl}$

### 3.3 試薬濃度及び pH の影響

3.3.1 酸-塩基指示薬の濃度 使用する酸-塩基指示薬としてチモールブルー、プロモチモールブルー、プロモクレゾールグリーンについて検討し、感度及びベースラインの安定性の点からチモールブルーを使用することにした。チモールブルー濃度の影響について  $5.0 \times$

$10^{-5}$ ~ $1.8 \times 10^{-4}$  M の範囲で検討した結果, チモールブルーの濃度を増加させると高感度となるが, 試薬から試験値も高くなりベースラインも不安定になった. そこでベースラインの安定な  $1.5 \times 10^{-4}$  M を用いることとした.

**3.3.2 リン酸緩衝液濃度** リン酸水素二ナトリウム濃度を  $2 \times 10^{-4}$  M~ $6 \times 10^{-4}$  M の範囲で検討した結果, 緩衝液の濃度が低いとベースラインが不安定となり, 逆に高いと感度が低下した. そこでリン酸水素二ナトリウム濃度は  $4 \times 10^{-4}$  M を用いることとした.

**3.3.3 pH** pH を 7.7~8.5 の範囲で検討した. チモールブルーの  $\text{p}K_a$  が 9.20 であるために,  $\text{p}K_a$  に近いほど高感度となるがベースラインが不安定となった. そこで pH は 8.4 を用いることとした.

### 3.4 流路系

試料注入量を 100~220  $\mu\text{l}$  の範囲で検討したところ, 注入量が多くなるほど高感度となるが分析速度が低下する. そこで試料注入量は実際試料中のアンモニア濃度を勘案し 140  $\mu\text{l}$  とした. 温度はガス拡散に大きく影響するため, キャリヤー液, 試薬溶液の貯蔵瓶及びガス拡散装置を恒温槽に入れた. 槽の温度を 30~50  $^{\circ}\text{C}$  の範囲で変えて検討したところ, 高温になるほど高感度になるがベースラインのノイズも大きくなった. そこで比較的ベースラインも安定し高い感度も得られる 40  $^{\circ}\text{C}$  にした. なお高温となった試薬溶液が直接フローセルに送られると, セル室との温度差のためにベースラインの安定に時間を要し, 又ベースラインが不安定になったが, フローセルの前に 30 cm の冷却コイルを接続し, 水浴にて冷却することにより安定したベースラインが得られた. ガス拡散装置の多孔質 PTFE 膜をキャリヤー液が通過するのを防ぐために, ガス拡散装置後にはノンプレッシャーチューブ(内径 1.0 mm PTFE チューブ)を使用した. 以上の条件下で検量線は上限 5 ppm まで直線性があり, 1 時間当たり 25 試料の分析が可能であった. 20 及び 200 ppb のアンモニア態窒素の 9 回繰り返し定量の相対標準偏差はそれぞれ 3.8, 1.6% であった. Fig. 4 に検量線作成用のシグナルの一例を示す.

### 3.5 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 1 に示す. 検討したイオンのうちほとんどは環境水中に含まれている濃度では妨害しなかった. 酸を注入するとキャリヤー液として送液している水酸化ナトリウム水溶液中の溶存二酸化炭素が気化し, 負の妨害を与えた. 許容で

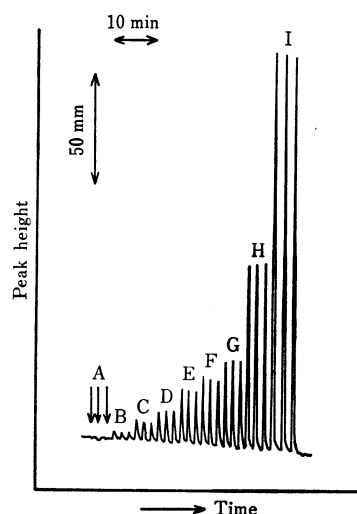


Fig. 4 Flow signals for ammoniacal nitrogen

$\text{NH}_4^+-\text{N}$  (ppb) : A=0, B=10, C=20, D=40, E=60, F=80, G=100, H=200, I=400

Table 1 Effect of diverse substances

Substance	Concentration/M
$\text{Na}^+$ , $\text{Cl}^-$	0.5
$\text{K}^+$ , $\text{Ca}^{2+}$ , $\text{Mg}^{2+}$ , $\text{I}^-$ , $\text{Br}^-$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{SO}_4^{2-}$ , $\text{CO}_3^{2-}$	0.1
$\text{SiO}_3^{2-}$ , $\text{Cl}_2$	$10^{-3}$
$\text{H}^+$ , Glycine	$10^{-4}$
Methylamine	$10^{-6}$

きる水素イオン濃度は  $10^{-4}$  M 以下であった.

### 3.6 環境水中のアンモニアの定量

環境水を本法で分析した結果と, ミクロケルダール蒸留法で不純物を取り除いた後本法でアンモニアを定量した結果を Table 2 に示す. 実際試料を直接分析する場合には, 試料注入口に 0.45  $\mu\text{m}$  のメンブランフィルターを取り付け, 試料中の残留物を汙過除去した後注入した. 又, 蒸留処理により得られた値は, 試料 25 ml を蒸留装置に入れ, 50% 水酸化ナトリウム水溶液を 1 ml 加え, これを水蒸気蒸留し 0.018 M の硫酸 5 ml に吸収させ, 中和した後に蒸留水で 25 ml 定容とし, 本法で定量したものである. 両者の定量値は良く一致している. この結果からも, 本法によるアンモニアの定量は共存物質の妨害を受けていないことが分かる. 以上の結果から, 本法は河川水, 湖沼水, 海水中のアンモニアの定量法として十分使用できるものと思われる.

Table 2 Determination of ammonium ions in water

Sample	Sampling date <sup>a)</sup>	Found(NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N, ppb) <sup>b)</sup>	
		This method	Distillation method <sup>c)</sup>
Asahi River	(1)	6±2	
Takahashi River	(5)	20±3	
Yoshii River	(5)	110±3	106±1
Zasu River	A (2)	218±5	
	B (3)	252±3	
	C (4)	180±3	182±5
Sasagase River	A (5)	880±10	884±10
	B (6)	2430±22	
	C (6)	1330±11	
	D (6)	990±14	
	E (6)	940±11	
	F (6)	1060±7	
Kojima Bay	A (5)	130±4	132±2
	B (5)	192±6	196±2
Kojima Lake	A (5)	470±13	474±2
	B (5)	474±9	446±5

a) (1) September 22 1986, (2) November 25 1986, (3) November 26 1986, (4) December 18 1986, (5) December 22 1986, (6) January 21 1987. b) Mean of three determinations. c) Ammonia in 25 ml of sample was distilled by Micro-Kjeldahl's method and trapped in 5 ml of 0.018 M sulfuric acid. It was neutralized and diluted to 25 ml with distilled water. The solution was used for determination of ammonia by the proposed FIA.

### 文 献

- 1) "Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water", 14th ed., p. 407 (1976), (American Public Health Association, Washington D. C.).
- 2) 武井信典: 分析化学, **5**, 261 (1956).
- 3) N. D. Danielson, C. M. Conroy: *Talanta*, **29**, 401 (1982).
- 4) F. J. Krug, J. Růžička, E. H. Hansen: *Analyst* (London), **104**, 47 (1979).
- 5) J. W. B. Stewart, J. Růžička, H. Bergamin Filho, E. A. Zagatto: *Anal. Chim. Acta*, **81**, 371 (1976).
- 6) 三笠博司, 本水昌二, 桐柴恭二: 分析化学, **34**, 518 (1985).
- 7) M. Van Son, R. C. Schothorst, G. Den Boef: *Anal. Chim. Acta*, **153**, 271 (1983).
- 8) T. Aoki, S. Uemura, M. Munemori: *Anal. Chem.*, **55**, 1620 (1983).
- 9) 青木豊明, 植村 哲, 宗森 信: 分析化学, **33**, 505 (1984).
- 10) T. Aoki, M. Munemori: *Anal. Chem.*, **55**, 209 (1983).
- 11) K. Nagashima, M. Matsumoto, S. Suzuki: *Anal. Chem.*, **57**, 2065 (1985).



**Determination of ammoniacal nitrogen in water by FIA with a gas-diffusion unit.** Tohru KUWAKI, Masanori AKIBA, Mitsuko OSHIMA and Shoji MOTOMIZU (Department of Chemistry, Faculty of Science, Okayama University, 3-1-1, Tsushima-naka, Okayama-shi, Okayama 700)

In this paper, the authors present an assembly of a gas-diffusion unit with a tubular microporous PTFE (polytetrafluoroethylene) membrane, constructed without any glue, and also present the determination of ammoniacal nitrogen in water. In this method, the sample was injected into an alkaline stream (carrier stream) in which the ammonium ions injected were converted to ammonia molecules, then the carrier stream flowed into the gas-diffusion unit. Reagent solution, which contained Thymol Blue and was adjusted to pH 8.4, was also fed to the gas-diffusion unit, and flowed through the microporous PTFE membrane tubing. Ammonia passed through the PTFE membrane and reacted with the acidic form of Thymol Blue to change it to the basic form. The color change to the basic form was measured at 596 nm in a flow-through cell. The detection limit was about 2 ppb as ammoniacal nitrogen, the response was linear up to 5 ppm, the sampling rate was 25 h<sup>-1</sup>, and the relative standard deviations obtained by nine injections of 20 ppb and 200 ppb solutions were 3.8% and 1.6%, respectively. The results obtained by directly injecting water samples were in good agreement with that obtained by injecting the solutions prepared according to the Micro-Kjeldahl's distillation method.

(Received April 3, 1987)

### Keyword phrases

FIA with gas-diffusion unit; tubular microporous polytetrafluoroethylene; determination of ammoniacal nitrogen; Thymol Blue.