

methylenedithiocarbamate (HMAHMDC) methanolic solution, acetate buffer (pH 4.2), and 8 ml of diisobutylketone (DIBK) were stirred vigorously in the extraction vessel for 7 min by a magnetic stirrer. The extract was introduced into the ultrasonic nebulizer by the displacement bottle method and analyzed by ICP-ES. Detection limits for Cd, Co, Cu, Fe, Mo, Ni, Pb, Zn, and V of the method were consistently lower than those by a pneumatic nebulizer. Metal blank was lower ($<0.005 \mu\text{g}$) than that of the separatory funnel method. The proposed method was applied to the analysis of NBS SRM 1643a, metal plating plant waste waters, and coastal seawaters.

(Received April 23, 1985)

Keyword phrases

simple solvent extraction and ultrasonic nebulization; inductively coupled plasma emission spectrometry; determination of trace metals in waste waters and coastal seawaters.

フローインジェクション-蛍光法による 河川水中のアンモニアの定量

三笠博司, 本水昌二, 桐柴恭二^{Ⓐ*}

(1984年12月17日受理)

1 緒言

アンモニアの定量にはインドフェノール法^{1)~4)}, ネスラー法⁴⁾などがもっぱら用いられてきたが, 河川水中のアンモニアを定量するためには蒸留などの前濃縮が必要である。アミン, アミノ酸の蛍光試薬として知られる7-クロロ-4-ニトロ-2,1,3-ベンゾキサジアゾール (DBD-Cl) や *o*-フタルアルデヒド (OPA と略記) もアンモニアと反応し発蛍光性物質を生成するが, DBD-Cl の反応速度は小さい⁵⁾。一方 OPA は 2-メルカプトエタノール (ME と略記) の共存下ではアンモニアと迅速に反応するため⁶⁾, 既にアンモニアの定量にも利用されている⁷⁾。更にフローインジェクション分析 (FIA) において, OPA 法はテフロン膜分離後のアンモニアの定量にも応用され, 好結果を与えている⁸⁾⁹⁾。アンモニアの FIA における検出法としては導伝率測定法も用いられているが¹⁰⁾, テフロン膜分離法に比べ装置が煩雑で

ある。

本報では河川水中のアンモニアの迅速, 高感度定量法の開発を目的とするため, テフロン膜分離は用いず, 又アミノ酸の妨害を防ぐために陰イオン交換樹脂を詰めたカラムを流路中に挿入する FIA-蛍光法を検討した結果について述べる。

2 実験

2.1 装置

FIA の流路系を Fig. 1 に示す。送液はサヌキ工業製ダブルプランジャー型ポンプにより流量 1.2 ml/min で行った。陰イオン交換カラムには内径 3 mm, 長さ 30 cm のテフロン管に Amberlite IRA-400 (粒子径 0.38~0.45 mm) を詰めたものを用いた。反応管は内径 0.5 mm のテフロン管を用いた。なお, 反応試薬側の送液管及び反応管は光を遮るために黒色のものを用いた。検出器には 18 μ l フローセル付き日立 650-10S 型分光蛍光光度計を用いた。

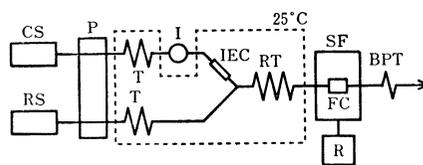


Fig. 1 Schematic diagram of flow system

CS: carrier solution (H_2O); RS: reagent solution (*o*-phthalaldehyde and 2-mercaptoethanol); P: pump (1.2 ml/min); T: Teflon tubing (i.d. 0.5 mm \times 3 m); I: sample injection valve; IEC: anion exchange column (Amberlite IRA-400); RT: reaction tubing (i.d. 0.5 mm \times 3 m); SF: spectrofluorometer (Hitachi 650-10S); R: recorder; BPT: back pressure tubing (i.d. 0.3 mm \times 30 cm); Dotted line: water bath (25°C)

2.2 試薬

反応試薬溶液: OPA (和光純薬工業製) のエタノール溶液 (84 mg/ml) 5 ml に, pH 9.5 の緩衝液 (0.4 M のホウ酸-水酸化ナトリウムの溶液) 300 ml を混合し, これに ME (和光純薬工業製) のエタノール溶液 (5.6 mg/ml) 5 ml, アスコルビン酸水溶液 (0.18 mg/ml) 3 ml を加え混合する。室温で約 1 時間放置後を用いる。反応試薬溶液中の濃度は, OPA 1.3 mg/ml, ME 0.089 mg/ml, アスコルビン酸 1.7×10^{-3} mg/ml であり, 反応試薬溶液は調製後 1 日は十分使用できる。

標準液: 市販特級塩化アンモニウム (和光純薬工業製) を減圧下 (5 mmHg), 50°C で 8 時間乾燥し, 水に溶かして 10^{-3} M とした。使用前に適宜希釈して用いた。

3 結果及び考察

3.1 励起及び蛍光波長

励起及び蛍光波長はそれぞれ極大波長である 350 nm

* 岡山大学理学部: 700 岡山県岡山市津島中 3-1-1

及び 486 nm を用いた。スリット幅はベースラインの安定性を考慮し、励起側 2 nm, 蛍光側 20 nm を用いた。

3.2 試薬濃度及び pH の影響

OPA の濃度の影響について検討した結果を Fig. 2 に示す。OPA の濃度の増加とともに感度は増すが溶解度を考慮して 10^{-2} M を用いることにした。同様に ME の濃度の増加とともに感度も増すが、それに伴いから試験値も大きくなるため 10^{-3} M を用いることにした。試薬の空気酸化を防ぐためにアスコルビン酸を用いた。アスコルビン酸の添加量は検量線に影響を及ぼさない 10^{-4} M を用いた。pH の影響を Fig. 3 に示す。pH 9.5 付

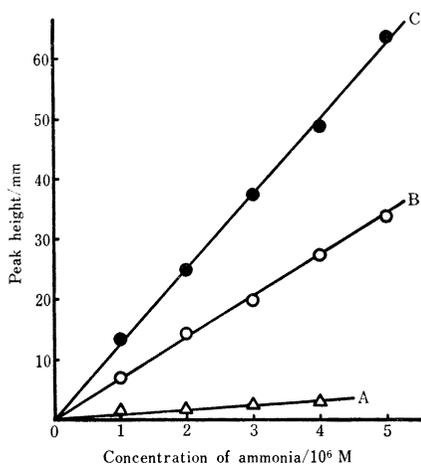


Fig. 2 Effect of *o*-phthalaldehyde (OPA) concentration on the peak height
A: 10^{-4} M; B: 10^{-3} M; C: 10^{-2} M

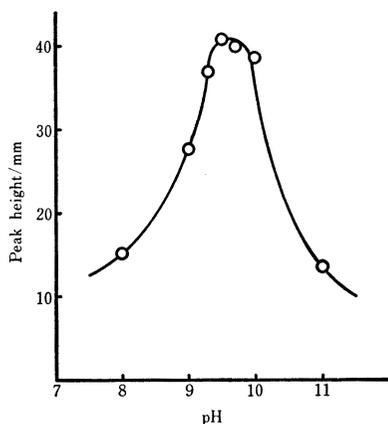


Fig. 3 Effect of pH on the peak height
Ammonia: 4×10^{-6} M

近で蛍光は最大となるので、pH 9.5 を用いることにした。

3.3 流路系

1, 2, 3, 4, 5 m の長さの反応管を用い、流量を 0.2~1.2 ml/min の範囲で変えて検討した結果、長さ 3 m, 流量 1.2 ml/min の場合に最高のピーク高さが得られた。試料注入量が多いほど感度は増すが、ピーク幅の増大により分析速度の低下を招くため河川水中のアンモニア濃度を考慮し 40 μ l を注入することとした。反応試薬側の送液管及び反応管に乳白色のものを用いるとピーク高さの再現性が悪いが、黒色のものを用いると再現性はかなり改善された (4×10^{-6} M のアンモニアの 10 回の繰り返し実験の相対標準偏差は乳白色管 5.7%, 黒色管 1.8%)。以上の条件下で検量線は 2×10^{-6} M ($\text{NH}_3\text{-N}$: 280 ppb) まで直線性を示し、1 時間当たり 40 試料の分析が可能であった。Fig. 4 に検量線作成の一例としてのシグナルを示す。

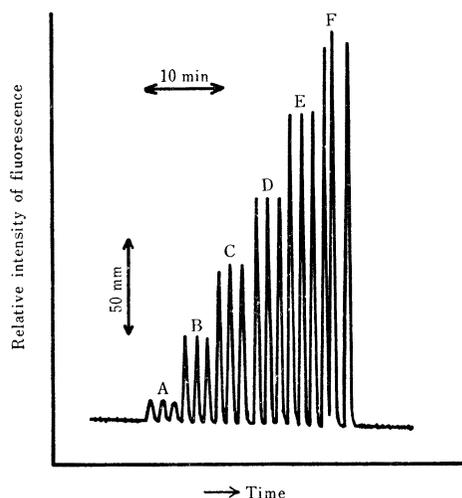


Fig. 4 Flow signals for ammonia

Ammonia: A 0, B 2×10^{-6} M, C 4×10^{-6} M, D 6×10^{-6} M, E 8×10^{-6} M, F 10×10^{-6} M

3.4 アミノ酸及びアミン類の影響

OPA はアミノ酸、第一級アミンとも反応し強い蛍光を示す生成物を与える⁶⁾。本法ではアミノ酸の妨害を除くために流路系に陰イオン交換カラムを取り付けた結果、アミノ酸は 10^{-4} M 共存しても妨害とならないことが分かった。しかし、第一級アミンは 10^{-7} M 共存しても正の誤差を与えた (Table 1)。

Table 1 Tolerance limit of coexistence of diverse substances

Substance	Tolerance concentration/M†
Glycine, leucine, lysine, urea, trimethylamine, diethylamine	10 ⁻⁴
Methylamine	10 ⁻⁸ ††
Na ⁺ , Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , HCO ₃ ⁻ , Cl ⁻ , SO ₄ ²⁻	10 ⁻²
K ⁺ , NO ₃ ⁻	10 ⁻³
SiO ₃ ²⁻ , Fe ³⁺ , Al ³⁺	10 ⁻⁴

† Concentration which cause errors larger than 2%. †† Tolerance limit

3.5 無機イオンの影響

河川水中に存在すると思われる主なイオンの影響について調べた結果を Table 1 に示す。Table 1 より、都市下水の混入しない河川水中に存在すると思われるイオンは妨害しないことが分かる。

3.6 河川水中のアンモニアの定量

河川水中のアンモニアを定量した結果を Table 2 に

Table 2 Determination of ammonia and recovery test of ammonia added to water sample

Sample	Ammonia-N in sample, ppb	Recovery test ^{a)}		
		Ammonia-N, ppb Added	Total found	Recovery, %
River water ^{b)}				
Ashida R.	A ^{c)} 9.6			
	B ^{c)} 11.5			
Asahi R.	A ^{c)} 14.3			
	B ^{d)} 41.5	{ None 5.6 11.2	{ 33.2 38.9 44.5	{ 102 101
Nishi R.	A ^{c)} 10.1			
	B ^{d)} 51.3	{ None 5.6 11.2	{ 41.0 47.4 52.5	{ 114 103
Sasagase R.	A ^{c)} 128.5			
	B ^{d)} 122.1	{ None 11.2 22.4	{ 97.7 109.5 121.1	{ 105 104
Yoshii R.	A ^{c)} 5.4			
	B ^{c)} 14.1			
	C ^{d)} 147.5	{ None 11.2 22.4	{ 118.0 129.9 140.1	{ 106 99
Suna R.	A ^{c)} 22.4			
	B ^{d)} 151.3	{ None 11.2 22.4	{ 121.0 132.6 144.5	{ 104 105
Zasu R.	A ^{c)} 26.0			
Tap water ^{e)}	3.2			

a) Evaluation of recoveries of ammonia-N was based on the addition of ammonia to 20 ml of sample solution in a 25 ml calibrated flask. b) These rivers are located in Okayama Prefecture. c) These samples were sampled on September 24, 1984, and concentration of ammonia was determined without dilution. d) These samples were sampled on May 8, 1985. e) The sample was injected after being passed through zinc column.

示す。各河川のアンモニア濃度は平均値 30~50 ppb¹¹⁾ の 1/3 から 5 倍程度である。回収率は、試料水 20 ml とアンモニア標準液 5 ml の混合溶液の定量結果より計算した。又、水道水のように残留塩素を含む試料の場合には、残留塩素により試薬が酸化され妨害となるので、試料水は亜鉛粒(和光純薬工業製、砂状無ヒ素亜塩)を詰めたカラム(内径 3 mm, 長さ 15 cm)を通した後、試料導入バルブに入るようにした。これにより塩素は還元されて塩化物イオンとなり妨害とはならなかった。

4 結 語

本法によれば、河川水中のアンモニアを高感度、迅速に定量できるため、汚染の少ない河川水中のアンモニアの簡便な分析法として有用である。

文 献

- 1) C. J. Patton, S. R. Crouch : *Anal. Chem.*, **49**, 464 (1977).
- 2) T. T. Ngo, P. H. D. Phan, F. C. Yam : *Anal. Chem.*, **54**, 46 (1982).
- 3) JIS K 0102 工場排水試験方法 (1981).
- 4) "Standard Methods for the Examination of Water and Waste Water", 14th ed. p. 407 (1976), (American Public Health Association, Washington D. C.).
- 5) Y. Nishikawa, K. Kuwata : *Anal. Chem.*, **56**, 1790 (1984).
- 6) M. Roth : *Anal. Chem.*, **43**, 880 (1971).
- 7) N. D. Danielson, C. M. Conroy : *Talanta*, **29**, 401 (1982).
- 8) T. Aoki, S. Uemura, M. Munemori : *Anal. Chem.*, **55**, 1620 (1983).
- 9) 青木豊明, 植村 哲, 宗森 信 : 分化, **33**, 505 (1984).
- 10) R. M. Carlson : *Anal. Chem.*, **50**, 1528 (1978).
- 11) 小林 純 : 農学研究, **48**, 63 (1960).

☆

Fluorometric determination of ammonia in river water by flow injection analysis. Hiroshi MIKASA, Shoji MOROMIZU, and Kyoji TÔEI (Department of Chemistry, Faculty of Science, Okayama University, 3-1-1, Tsushima-naka, Okayama-shi, Okayama 700)

Flow injection analysis(FIA) was examined for the fluorometric determination of ammonia in river water. Ammonia reacted with *o*-phthalaldehyde(OPA) in the presence of 2-mercaptoethanol(ME) to form a fluorescent substance at pH 9.5. The reagent solution containing 10⁻² M OPA and 10⁻³ M ME and the carrier fluid(distilled water) were propelled by a double plunger pump at a rate of 1.2 ml/min. The 40 μl sample solution, injected into the carrier stream, was mixed with the reagent solution in a Teflon tubing (3 m, 0.5 mm i.d.) and led to a flow cell(18 μl). Fluorescence excited at λ_{ex}=350 nm was measured at λ_{em}=486 nm. Ions present commonly in river waters did not interfere with the determination of ammonia. An anion ex-

change column installed just behind a sample injection valve in the flow system was effective in eliminating interferences with amino acids. Using the proposed FIA system, trace amounts of ammonia (3~150 ppb as nitrogen) in river water were determined in the rate of 40 samples per h.

(Received December 17, 1984)

Keyword phrases

flow injection analysis of ammonia; reaction of ammonia with *o*-phthalaldehyde and 2-mercaptoethanol; ammonia-nitrogen in waters by fluorophotometry.

