

## フローインジェクション-吸光光度法による 海水中の硝酸態窒素の簡易・迅速定量

本田 清一郎  
(筑前海研究所)

Simple and Rapid Determination of Nitrate-nitrogen in Sea Water  
by Flow Injection Method of Analysis with Spectrophotometric Detection

Seiichiroh HONDA  
(Chikuzenkai Laboratory)

海域の水質調査において、硝酸イオンは硝酸態窒素 ( $\text{NO}_3\text{-N}$ ) として、水産環境水、赤潮発生機構、汚濁機構の解析などを行う上で重要な項目である。従来の銅・カドミウムカラム法による  $\text{NO}_3\text{-N}$  の吸光光度定量法は WOOD ら<sup>1)</sup> により開発され、JIS 法<sup>2)</sup> や STRICKLAND ら<sup>3)</sup> による方法として用いられ、またオートアナライザーによる機器分析<sup>4)</sup> がよく知られている。銅・カドミウムカラム法である JIS 法等は銅・カドミウムカラムを通すのに人手と時間がかかり、またオートアナライザーによる機器分析は機器購入にかなりの経費が掛かるなどの問題がある。

しかし、海水の環境診断には迅速性に優れ、自動可能な分析法の開発が望まれている。そこで、簡易迅速な定量法を開発するためフローインジェクション (FIA) 法<sup>5)</sup> と吸光光度法を組み合わせ、硝酸態窒素簡易分析法について検討した。

本法は従来の方法に比べて操作が比較的容易であり、鋭敏かつ迅速な分析法として確立できたので報告する。

### 実 験

#### 1. 試 薬

硝酸態窒素標準液および亜硝酸態窒素標準液：

和光純薬工業製の海水栄養塩分析用 CSK 標準溶液を用いた。

キャリアー液：エチレンジアミン四酢酸四ナトリウム 0.16 g と塩化アンモニウム 0.6 g を水約 900 ml に加えて溶かし、更に水で 1 l とし、pH 8.1 に調整した。

銅・カドミウムカラム：東京化成工業(株)製のカラムを上述のキャリアー液で十分活性化したものを用いた。

試験溶液：スルファニルアミド 2 g を塩酸 60 ml と水約 80 ml との混合液に溶かし、更に水を加えて 200 ml としたものと、N-1-ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩 0.2 g を水に溶かして 200 ml としたものを、使用直前に等量混合し試薬とした。

特に断りのないかぎりすべて市販特級品を用いた。また、水はイオン交換蒸留水を用いた。

#### 2. 装 置

使用したフローシステムを図 1 に示す。ポンプ及びインジェクターはダブルプランジャー式ポンプ (サヌキ工業製 DMX-200 型) を用い、チューブやジョイントなどはテフロン製のものを用いた。海水試料は自動サンプリング装置 (サヌキ工業製 SS-3000 型) により注入した。吸光度の測定は

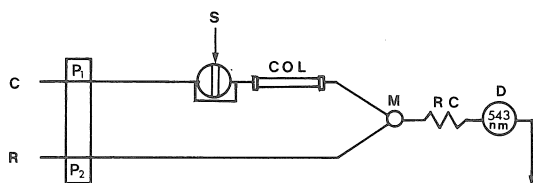


図1 フローインジェクション (F I A) 分析装置

- C : キャリヤー液, R : 試薬溶液,
- P<sub>1</sub>, P<sub>2</sub> : ポンプ, S : 試料溶液,
- COL : 銅・カドミウムカラム
- M : 混合器
- RC : 反応コイル
- D : 検出器 (分光光度計)

分光光度計 (日立製 U-2000 型) に光路長 1 cm, 内容量 70  $\mu$ l のフローセルをとりつけて行った。記録計はシステムインストルメント製クロマトコーダー 12 型を用いた。

### 3. 操 作

ダブルプランジャー式ポンプの一方の流路より、スルファニルアミドと N-1-ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩を主成分とする試験溶液を送液し、他方よりキャリヤー液を送液した。流量はそれぞれ 750  $\mu$ l $\cdot$ min<sup>-1</sup> とした。海水試料をインジェクターのサンプルループ (200  $\mu$ l) に充填し、切り替えバルブによりキャリヤー液に注入した。注入された試料は、銅・カドミウムカラムを通過し硝酸イオンを亜硝酸イオンに還元した後、試験溶液と合流混合され、反応によって生じた桃紅色に発色した溶液の吸光度を波長 543 nm で測定し記録した。吸光度のピーク高さを測定し、あらかじめ作成していた検量線から硝酸イオン濃度を算出した。

## 結果および考察

### 1. F I A 利用の最適化

反応 (発色) 時間, 反応コイル長, 試料注入量について, それぞれ F I A への最適化を検討した。発色は F I A により試料が導入された後, 直ちに発色し始め約 1 分後でほぼ最大となり, 少なくとも 1 時間は安定した呈色を維持した (図 2)。次に反応コイルについて検討した。反応コイルは試

料が銅・カドミウムカラムを通過後, 試験溶液と合流混合し, 反応後, 桃紅色に発色する部位である。反応コイルは内径 0.5 mm のテフロンチューブを用いたため, 分光光度計までに要する時間を上記の反応時間から 30 秒後と設定し, 反応コイル長は 4 m とした。また, 試料注入量についてもサンプルループ長を変化させ, 50  $\mu$ l, 100  $\mu$ l, 200  $\mu$ l, 400  $\mu$ l に設定し検討した。50  $\mu$ l と注入量が少ない場合にはピークは低く安定せず, それに対して 400  $\mu$ l と注入量の多い場合にはピークは平坦となり検量線の直線性はなくなった。そこで海水試料として 200  $\mu$ l を用いた。なお, 流量に関しては, 試験溶液および試料注入量を考慮し, 試験溶液およびキャリヤー液ともそれぞれ 750  $\mu$ l $\cdot$ min<sup>-1</sup> で送液した。また, 試料注入時間は 2 分間隔と設定した。流量, 試料注入時間に関しては詳しい検討は行わなかった。この条件で 1 時間当たり 30 検体連続的に計測でき, 自動サンプリング装置を用いれば分析の自動化も可能である。

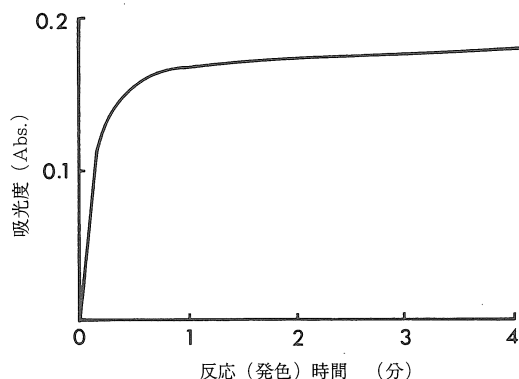


図2 F I A に試料が導入された後の反応 (発色) 時間

### 2. 検量線

上記の最適条件を基に, 硝酸イオンの検量線を作成した (図 3)。検量線は良好な直線性を示し, 検出限界は S/N = 3 で電氣的に増幅した場合硝酸イオンとして 0.5  $\mu$ g $\cdot$ at $\cdot$ l<sup>-1</sup> であった。精度は硝酸イオン 5, 10, 20  $\mu$ g $\cdot$ at $\cdot$ l<sup>-1</sup> を含む試料溶液を各々 10 回測定した結果, ピーク再現性の変動率は 1.46 % であった (表 1, 図 4)。

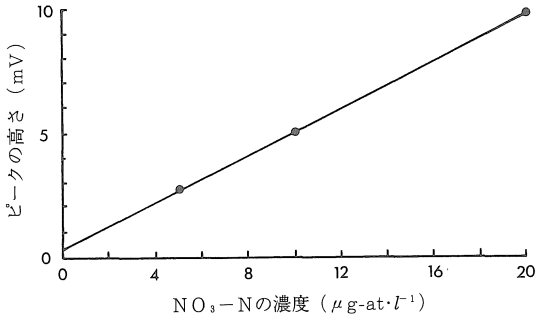


図3 検量線

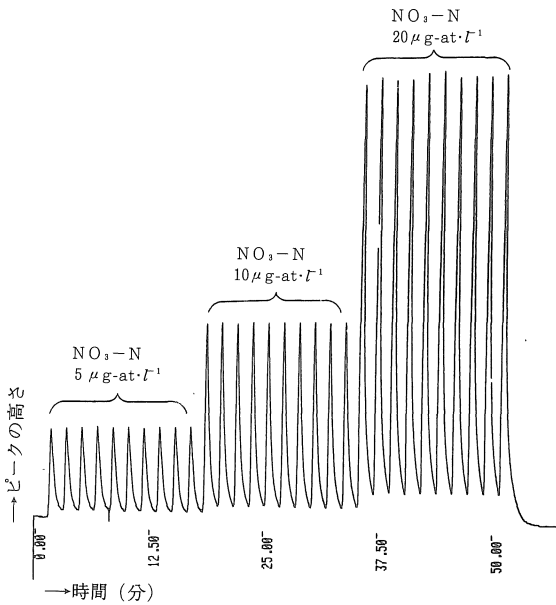


図4 ピーク再現性用のフローシグナル

表1 ピークの再現性の変動率

	5 μg-at·l <sup>-1</sup>	10 μg-at·l <sup>-1</sup>	20 μg-at·l <sup>-1</sup>
1	17544	39703	87086
2	16952	38638	87782
3	17080	38695	88782
4	17152	39046	88142
5	17070	39271	88538
6	17410	38763	86756
7	17326	38989	87266
8	16794	38269	87451
9	16944	39780	88290
10	17257	38877	89082
変動率(%)	1.28	0.77	2.34
変動率の平均	1.46		

表2 共存物質の影響

物質名	硝酸塩濃度	共存物質濃度	回収率%
塩分	10 μg-at·l <sup>-1</sup>	10%	104
		20%	101
		30%	99
		35%	100
NH <sub>4</sub> -N	"	1 μg-at·l <sup>-1</sup>	106
		10 "	103
		50 "	107
Ca (II)	"	1 mg·l <sup>-1</sup>	104
		50 "	12
Mg (II)	"	1 "	102
		50 "	101
Fe (III)	"	0.1 "	100
		1.0 "	102
		10.0 "	100

溶液は現場海水 (NO<sub>3</sub>-N濃度 1.70 μg-at·l<sup>-1</sup>) を適宜希釈して用いた。

### 3. 妨害イオンの影響

海水中に含有する共存イオンについてその影響を調べた (表2)。塩分, アンモニウムイオン, Mg (II), Fe (III) などは通常海水中に存在する濃度では影響がないが, 表2に示すようにCa (II) は高濃度になると影響を与える。

### 4. 実試料への応用

本法を福岡湾における海水中の硝酸態窒素の定量に応用した。海水試料は孔径 0.45 μm のメンブランフィルターで濾過し浮遊物を除去した以外特別の前処理は施さず, 採水後6時間以内に測定

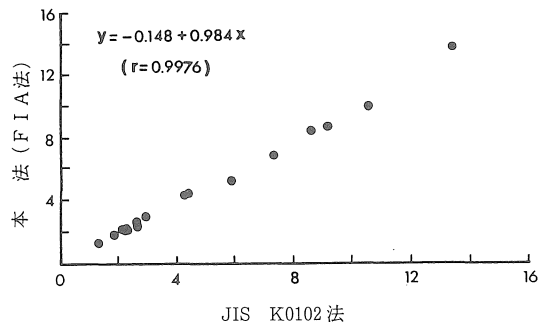


図5 海水中の硝酸態窒素の濃度 (μg-at·l<sup>-1</sup>)

表3 海水中の硝酸態窒素の濃度

Sample No.	NO <sub>3</sub> -N 従来法	$\mu\text{g-at/l}$ FIA法
1	1.31	1.25
2	1.86	1.80
3	2.22	2.05
4	2.31	2.07
5	2.20	2.05
6	2.99	2.95
7	2.65	2.60
8	4.45	4.40
9	4.33	4.29
10	13.48	13.75
11	9.24	8.65
12	7.38	6.85
13	5.90	5.17
14	10.62	10.00
15	8.65	8.39
16	2.63	2.28
17	2.27	2.13
18	2.65	2.32
19	2.13	2.05
20	2.29	2.13

するようにした。また、同一試料を JIS K0102 に採用されている銅・カドミウムカラム還元・ナフチルエチレンジアミン吸光度法でも定量した。その結果を表3、図5に対比して示した。両法による結果は硝酸態窒素  $1 \sim 14 \mu\text{g-at}\cdot\text{l}^{-1}$  の範囲で相関係数  $r = 0.9976$  と良く一致しており、満足する結果が得られた。

要 約

1) 海水中の硝酸態窒素の簡易迅速な定量法を開発するためフローインジェクション法 (FIA) と吸光度法を組み合わせ、硝酸態窒素簡易分析法について検討した。

2) FIA利用の最適化を検討した。この最適条件を基に分析すると1時間当たり約30検体連続的に分析できる。

3) 検量線は良好な直線性を示した。またピーク再現性の変動率は1.46%であった。

4) 海水中の共存イオンの影響について調べたが、通常海水中に存在する濃度では影響がみられなかった。

5) 本法を実試料(福岡湾の海水)へ応用した。また同一試料をJIS法で定量し比較したが、海水中の硝酸態窒素濃度は  $1 \sim 14 \mu\text{g-at}\cdot\text{l}^{-1}$  の範囲で、相関係数  $r = 0.9976$  と良く一致した。本法は海水中の硝酸態窒素の迅速定量法であると考えられた。

文 献

- 1) WOOD, E. D., F. A. J. ARMSTRONG and F. A. RICHARDS: Determination of nitrate in sea waters by cadmium-copper reduction to nitrite. J. Mar. Biol. Ass. U. K. 47, 23 - 31 (1967).
- 2) 日本工業標準調査会: 工場排水試験方法 JIS K 0102. 日本規格協会, 東京, 1986, 143 - 146.
- 3) STRICKLAND, J. D. H. and T. R. PARSONS: A Practical Handbook of Seawater Analysis Fisheries Research Board of Canada Ottawa, Bulletin 167- (1972).
- 4) 日本海洋学会: 海洋環境調査法. 恒星社厚生閣, 東京, 1979, 279 - 283.
- 5) 日本工業標準調査会: フローインジェクション分析方法通則 JIS K 0126. 日本規格協会, 東京, 1989.