

## 報 文

無電解濃縮/吸着ストリッピングボルタンメトリーによる  
微量亜硝酸イオンの定量田中 龍彦<sup>®\*</sup>, 石山 高\*, 大橋 満穂\*, 久保田一行\*Determination of trace nitrite by adsorptive stripping voltammetry  
based on non-electrolytic preconcentration

Tatsuhiko TANAKA, Takashi ISHIYAMA, Miho OHASHI and Ikko KUBOTA\*

\*Faculty of Engineering, Tokyo University of Science, 1-3, Kagurazaka, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8601

(Received 12 July 2002, Accepted 24 September 2002)

A simple and highly sensitive method has been developed for the determination of nitrite at the nM level by adsorptive cathodic stripping voltammetry with a graphite electrode in an acidic solution. The optimized experimental conditions were as follows: nitrite was diazotized with sulfanilamide and coupled the resulting diazonium salt with 1-naphthylamine for 25 min to produce an azo dye; the azo compound was accumulated on a graphite electrode with stirring for 5 min on an open circuit; the deposit was then cathodically stripped in the potential range 0.2 to -0.2 V vs. SCE at a scan rate of 50 mV/s by a differential pulse mode in 0.4 M hydrochloric acid. A single well-defined cathodic peak was obtained at around -0.05 V vs. SCE, and nitrite was determined from the peak height in the stripping voltammogram. The calibration graph was linear over a concentration range of 1.1~217 nM of nitrite (correlation coefficient > 0.999) with a relative standard deviation ( $n = 5$ ) of 1.1% for 65 nM of nitrite. The detection limit ( $3\sigma$ ), calculated from repeated determinations ( $n = 20$ ) of a blank solution, was 0.15 nM for an accumulation time of 5 min. The possible contamination due to the laboratory atmosphere was evaluated. By applying a non-electrolytic accumulation step, the maximum permissible concentrations of foreign elements in the determination of nitrite increased extremely. The proposed method was successfully applied to the determination of trace nitrite in commercial hydrochloric acid reagents. The time required for the whole procedure was within 35 min.

**Keywords** : determination of trace nitrite; adsorptive cathodic stripping voltammetry; graphite electrode; azo dye; non-electrolytic accumulation.

## 1 緒 言

河川水、湖沼水や海水中の亜硝酸性窒素（基準値 10 mg/l）は、植物性プランクトン、藻類や水生植物の異常発生を引き起こす汚染物質として知られている。したがって、亜硝酸イオンの定量技術の高度化は環境保全の観点から非常に重要である。

亜硝酸イオンの定量法として、ナフチルエチレンジアミン吸光光度法やイオンクロマトグラフィーが一般に用いら

れているが<sup>1)2)</sup>、これらの方法の定量下限はそれぞれ 1.1, 2.2  $\mu\text{M}$  であり、高感度定量法として適用するには感度が不足している。一酸化窒素とオゾンとの反応を利用する化学発光法の検出限界は 0.9 nM であるが<sup>3)</sup>、亜硝酸イオンを選択的かつ定量的に一酸化窒素に還元するには、測定条件の厳密な制御が必要である。

定量操作に目的元素の選択的濃縮過程を含むストリッピングボルタンメトリー (SV) は、簡単な操作で高い感度と精度が得られる電気化学分析法であり、既に数多くの成分の定量に用いられている<sup>4)5)</sup>。しかし、この方法を亜硝酸イオンの定量に応用した例は非常に少ない。弱酸性緩衝

\* 東京理科大学工学部工業化学科: 162-8601 東京都新宿区神楽坂 1-3

液中, セチルトリメチルアンモニウムプロミド-亜硝酸錯体をグラシーカーボン電極上に吸着濃縮する方法<sup>6)</sup>は十分な感度が得られず, 検出限界は 200 nM である. Fogg ら<sup>7)</sup>及び van den Berg ら<sup>8)</sup>は, ジアゾ化-カップリング反応で生成したアゾ化合物をつり下げ水銀滴電極 (HMDE) 上に定電位で電解前濃縮した後, 還元溶出させる吸着 SV を開発した. この方法は高感度であるが (検出限界 0.3 nM), 次のような問題点がある. 酸性 (pH 2.5) 下でジアゾ化-カップリング反応させた後, SV 測定時に溶液を弱塩基性 (pH 8.4) に調整しなければならない. また, 水・試薬類からの空試験値が大きく (4~10 nM), 前濃縮時間を長くしても定量下限は低下しない. 更に共存元素の影響を受けやすく, 適用可能な試料が限られてしまう. 作用電極に使用する水銀は取り扱いにくかつ規制物質であるから, この方法を工業的に実用化するのも非常に困難である. これらの問題点が解決されれば, アゾ化合物の酸化還元反応を利用する吸着 SV は, 現行化学分析法よりも感度, 精度, 簡便性及び迅速性に優れた亜硝酸イオンの定量法となる.

上述の問題点を克服するため, 本研究では酸性溶液中で, 取り扱いが容易な固体電極上に無電解でアゾ化合物を前濃縮し, 溶液の pH 調整をすることなく亜硝酸イオンが定量できる吸着 SV の開発を試みた. また, 空試験値の原因を明らかにするとともに, その低減化についても検討した.

## 2 実験

### 2.1 装置

吸着 SV には, ビー・エー・エス製の CV-50W エレクトロケミカルアナライザーと C2 セルスタンドを使用した. 対極には白金線 (直径 1 mm), 参照電極には飽和カロメル電極 (SCE) を用いた. 等方性グラファイト棒 (東海カーボン製, 直径 5 mm, 長さ 70 mm) は側面にエポキシ樹脂を塗布した後, テフロン熱収縮管に挿入し, 加熱して完全に被覆した. 端面 (表面積約 20 mm<sup>2</sup>) のみを作用電極として使用し, その表面は測定前に酸化アルミニウムフィルムシート (粒径 1 μm) で研磨した.

### 2.2 試薬

試薬はすべて特級品 (関東化学製) であり, 塩酸以外は精製せずにそのまま使用した. 塩酸は藤原製作所製 SHF-special II 石英ガラス製非沸騰式酸蒸留装置で精製した. 水は東レ製トレビュア LV-10T 純水製造装置を用いてイオン交換後逆浸透し, 更に藤原製作所製 HF-1500 石英ガラス製非沸騰式超高純度蒸留水製造装置によって精製したものを直ちに使用した. 0.2 M スルファニルアミド溶液及び 0.05 M 1-ナフチルアミン溶液は, それぞれ 0.7 M 及び 0.25 M 精製塩酸を用いて調製した. 亜硝酸イオン標準溶

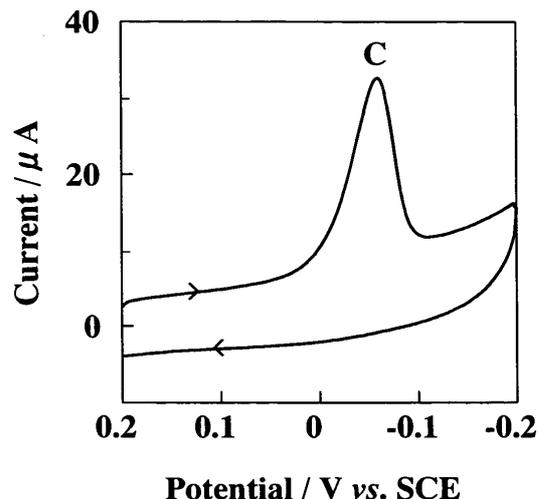


Fig. 1 Cyclic voltammogram for 22 μM nitrite in a 0.4 M hydrochloric acid solution (pH 0.6) containing 1.6 mM sulfanilamide and 6 mM 1-naphthylamine at a graphite electrode

Scan rate: 100 mV/s

液は, 市販のイオンクロマトグラフィー用標準液 (1 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/ml, 関東化学製) を使用の都度水で正確に希釈した. これらの溶液は毎日調製した.

### 2.3 定量操作

一定量の亜硝酸イオン標準溶液, 精製塩酸 1.5 ml, 0.2 M スルファニルアミド溶液 0.4 ml 及び 0.05 M 1-ナフチルアミン溶液 6 ml を 50 ml メスフラスコに採り, 軽く振り混ぜた後, 標線まで水で希釈し, 25 分間静置してアゾ化合物を生成させた.

全量ピペットを用いてこの溶液 5 ml を硬質ガラス製電気化学セル (内径 24 mm, 高さ 32 mm) に分取し, 600 rpm で磁気かくはんしながら無電解 (開回路) で 5 分間, アゾ化合物をグラファイト電極上に吸着した. 濃縮操作の終了と同時にかくはんを止め, 回路を組み立てた後, 示差パルスモード (パルス高さ 100 mV, パルス幅 50 ms, パルス間隔 100 ms) で 0.2 から -0.2 V vs. SCE まで 50 mV/s の速さで電位を走査し, 記録された電流-電位曲線のピーク高さから亜硝酸イオンを定量した.

## 3 結果と考察

### 3.1 アゾ化合物の電極反応機構

グラファイト電極を用いたアゾ化合物 {C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>)N = NC<sub>10</sub>H<sub>8</sub>NH<sub>2</sub>} のサイクリックボルタモグラムには, -0.05 V vs. SCE 付近に還元ピーク C が存在した (Fig. 1). HMDE を用いるとアゾ化合物の可逆的な酸化還元ピークが得られるが<sup>9)</sup>, 本研究で得られた還元ピーク C は不可逆であり, 対応する酸化ピークは認められなかった. ピーク

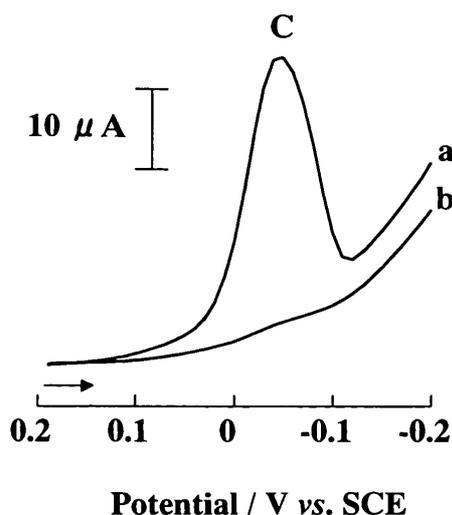


Fig. 2 Typical stripping voltammograms for (a) 0.2 and (b) 0  $\mu\text{M}$  nitrite

Accumulation for 5 min on an open circuit and stripping at a scan rate of 50 mV/s from 0.2 to  $-0.2$  V vs. SCE in a 0.4 M hydrochloric acid solution (pH 0.6) containing 1.6 mM sulfanilamide and 6 mM 1-naphthylamine. Diazotization and coupling time: 25 min

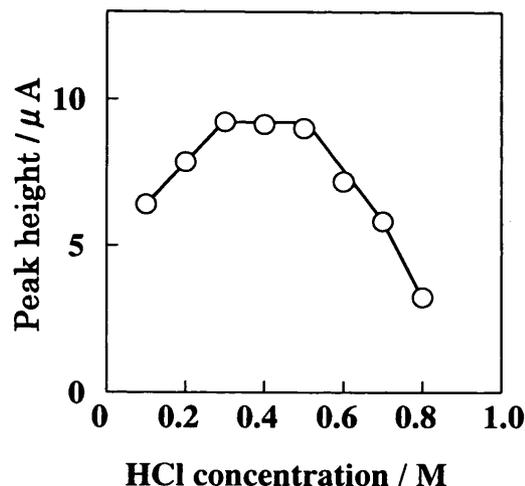


Fig. 3 Effect of the hydrochloric acid concentration on the peak height of 65 nM nitrite

Other conditions as in Fig. 2.

Cの高さと電位走査速度との間には直線関係が成立し、ピーク電位は電解液のpHが1増すごとに約60 mVの割合で負方向へ移動した。この結果は、ピークCの電極反応がグラファイト電極上に吸着したアゾ化合物の還元反応( $-N=N-$ 不飽和結合への水素付加)であることを示している。

アゾ化合物はグラファイト電極上に吸着しやすく、0.2  $\mu\text{M}$ 以下の濃度でさえ明りょうなピークCが得られた。したがって、作用電極にはグラファイトを選択し、吸着SV測定には還元ピークCを用いた (Fig. 2, 曲線 a)。一度研磨したグラファイト電極で連続測定すると、ピークCの高さは徐々に減少したので、毎測定前に電極表面を研磨した。アゾ化合物はグラシーカーボン電極上にも吸着するが、得られるピーク高さはグラファイト電極のそれに比べ1/6以下であった。白金や金電極ではアゾ化合物の酸化還元ピークは全く得られなかった。

### 3.2 支持電解質溶液と空試験値の検討

ジアゾ化, カップリング反応後, 酸性溶液中で亜硝酸イオンがSV定量できれば, Foggら<sup>7)</sup>や van den Bergら<sup>8)</sup>の方法に比べて操作が簡単になるため, 本研究では各種試料の溶解に多用される塩酸を支持電解質溶液として使用する方法について検討した。塩酸濃度0.3~0.5 Mで亜硝酸イオンのピーク高さは最大となったので, 塩酸濃度は0.4 M (pH約0.6)とした (Fig. 3)。ほかの無機酸も亜硝酸イオンの定量に妨害しないので, 支持電解質溶液として使用可

能であるが, 塩酸のほうがアゾ化合物の生成速度が速く定量に適していた。

開封直後の市販特級塩酸を使用した場合, 5分間の前濃縮で亜硝酸イオンの空試験値は約1 nMであったが, 開封してから2日間, 密栓して実験台中に静置した塩酸では11 nMに増加した。そこで石英ガラス製非沸騰式酸蒸留装置で精製直後の塩酸を使用したところ, 空試験値は0.65 nMとなり (Fig. 2, 曲線 b), van den Bergら<sup>8)</sup>の空試験値よりも1けた近く低くなった。精製塩酸を石英ガラス製栓付き三角フラスコ中に保存すれば, 空試験値は少なくとも5日間一定であった。

一方, 保存したスルファニルアミド溶液と1-ナフチルアミン溶液中には, 実験室雰囲気からの汚染 (恐らく窒素酸化物の吸収による空試験値の増加) が観察されたので, これらの溶液は毎日調製した。なお, van den Bergら<sup>8)</sup>は, 空試験値の主因は水から生じるとしているが, 本研究で使用した水による空試験値への影響は無視できた。

ジアゾ化, カップリング反応操作後の空試験溶液50 mlを入れた100 mlパイレックスビーカーに, 時計皿でふたをしてゆっくりかくはんしながら放置すると, 20分経過後に空試験値の増加が認められた (Fig. 4)。したがって, 20 nM以下の亜硝酸イオンを定量する場合には, 20分ごとに試料溶液を調製し直す必要がある。また, カップリング反応後の溶液中に窒素やアルゴンを10分間通気すると (300 ml/min), 空試験値はかくはんだけの場合よりも大きく24 nMとなった。溶液を不活性ガス雰囲気下で保存しても空試験値の低減化には効果がなかった。

### 3.3 ジアゾ化, カップリング反応条件の検討

スルファニルアミドと1-ナフチルアミンの溶液濃度の

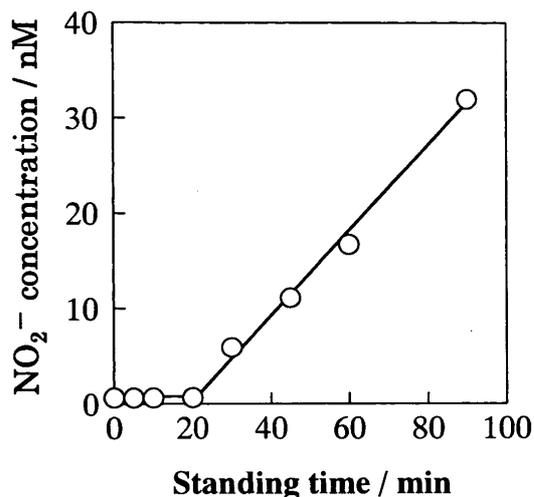


Fig. 4 Effect of the standing time of a gently-stirred blank solution on the blank value

Other conditions as in Fig. 2.

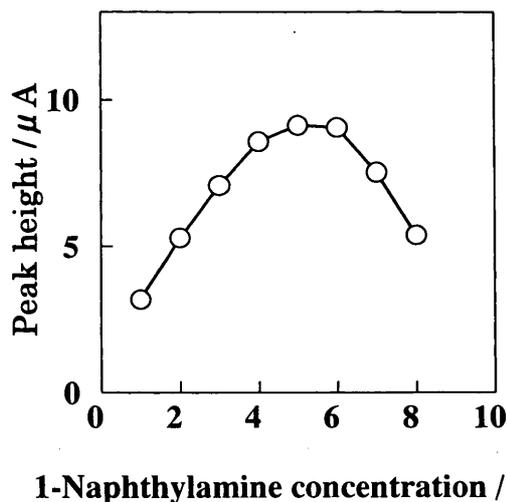


Fig. 6 Effect of the 1-naphthylamine concentration on the peak height of 65 nM nitrite

Other conditions as in Fig. 2.

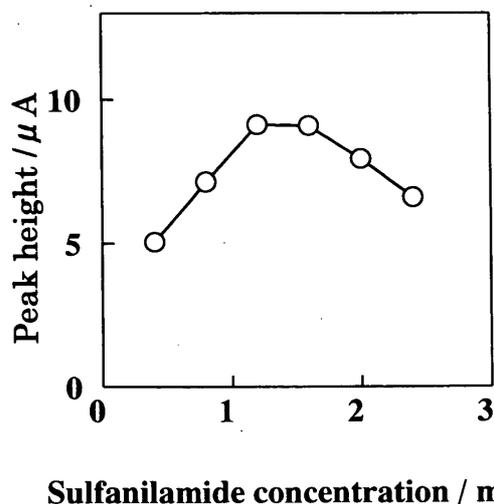


Fig. 5 Effect of the sulfanilamide concentration on the peak height of 65 nM nitrite

Other conditions as in Fig. 2.

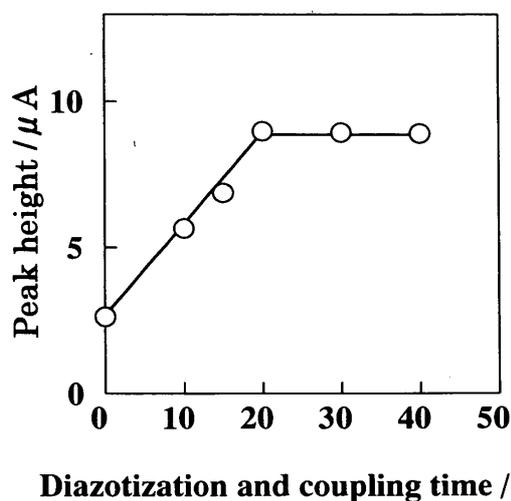


Fig. 7 Dependence of the peak height of 65 nM nitrite on the diazotization and coupling time

Other conditions as in Fig. 2.

影響を Figs. 5 と 6 に示す。感度の観点から、これら溶液の濃度は、それぞれ 1.6 mM, 6 mM とした。これら濃度以上になると、亜硝酸イオンのピーク高さは減少した。pH 0.5~0.7 でアゾ化合物を生成したとき亜硝酸イオンのピーク高さは最大となり、pH 0.7 以上では徐々に減少する傾向を示した。

スルファニルアミド溶液を加えてから 1 分間以上経過すると、ジアゾニウム塩の不安定さのために亜硝酸イオンのピーク高さは著しく減少した。そこで、スルファニルアミド溶液と 1-ナフチルアミン溶液を同時に加えてアゾ化合物を生成させた。定容後、密栓したメスフラスコ中の溶液の静置（ジアゾ化-カップリング反応）時間を延ばすと、

亜硝酸イオンのピーク高さは直線的に増加し、約 20 分間で一定値に達した (Fig. 7)。ここでは反応が完了した 25 分間をアゾ化合物の生成時間として選定した。

#### 3.4 前濃縮及び電位走査速度の最適化

アゾ化合物は電解、無電解のいずれでもグラファイト電極上に吸着したため、ここでは無電解濃縮法を採用した。無電解濃縮操作を用いることにより、共存元素の影響を受けにくくなることが期待される<sup>4)</sup>。前濃縮時間とピーク高さとの関係を Fig. 8 に示す。アゾ化合物が電極表面を飽和するまでピーク高さは前濃縮時間とともに増加し、約

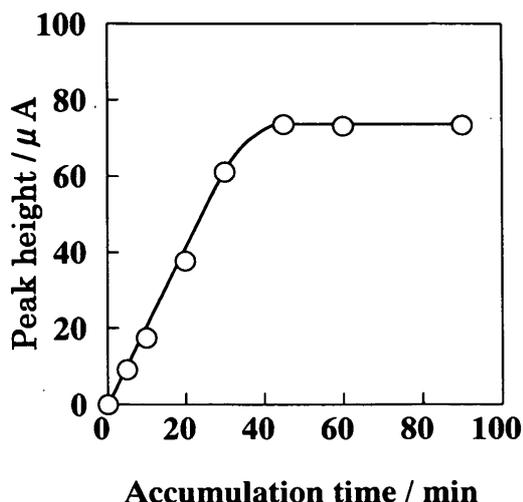


Fig. 8 Relationship between the accumulation time and the peak height of 65 nM nitrite

Other conditions as in Fig. 2.

45 分後に飽和に達した。本研究では 5 分間の前濃縮時間を採用したが (約 13% が吸着), 30 分間までピーク高さは直線的に増加しているため, 亜硝酸イオンの濃度に応じて前濃縮時間を変えることができる。

電位走査速度を上げるとピーク高さは大きくなったが, 100 mV/s 以上ではピーク幅が広くなるとともにピーク高さは低下したため, 50 mV/s を最適電位走査速度とした。

### 3.5 検量線及び共存元素の影響

検量線 (亜硝酸イオン濃度対ピーク高さ) は, 1.1~217 nM (0.05~10 ngNO<sub>2</sub><sup>-</sup>/ml) で直線となった (相関係数 0.999 以上)。感度 (検量線の傾き) は 0.14 μA/nM, 亜硝酸イオン 65 nM での相対標準偏差 (RSD,  $n = 5$ ) は 1.1% であった。5 分間の前濃縮時間で得られた空試験値 (0.65 nM) の  $3\sigma$  ( $n = 20$ ) から求めた検出限界は 0.15 nM であった。ピーク面積で作成した検量線も直線となったが, 簡便性を考慮して定量にはピーク高さをを用いた。Fogg<sup>7)</sup> や van den Berg<sup>8)</sup> の方法に比べ, 本法は pH 調整が不要であるなど操作が簡単でかつ検出限界は低下した。また, 空試験値を大きく低減できたので, 前濃縮時間の延長により感度の向上が更に期待できる。

亜硝酸イオン 65 nM の定量においてピーク高さの許容増減範囲を約 5% とすると, Ag<sup>+</sup>, Al<sup>3+</sup>, As<sup>3+5+</sup>, Au<sup>3+</sup>, Ba<sup>2+</sup>, Bi<sup>3+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup>, Cr<sup>3+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+3+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Mn<sup>2+</sup>, Mo<sup>6+</sup>, Na<sup>+</sup>, Ni<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Sb<sup>3+5+</sup>, Sn<sup>4+</sup>, Ti<sup>4+</sup>, V<sup>5+</sup>, W<sup>6+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, F<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, I<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, S<sup>2-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> は 1000 倍, Hg<sup>2+</sup> は 100 倍, Cr<sup>6+</sup> は 50 倍まで共存でき, 従来の吸着 SV<sup>6)8)</sup> よりも共存成分の許容濃度は大きく増加した。特に van den Berg

Table 1 Determination of nitrite in hydrochloric acid

Sample	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> in HCl/ng ml <sup>-1</sup>			RSD, %	
Analytical-grade reagent	1.2	1.3	1.5	Av. 1.3	15
Reagent for trace analysis	7.0	7.1	6.8	Av. 7.0	2.1
Reagent for electronics	4.9	5.1	5.1	Av. 5.1	3.5

の方法<sup>8)</sup>では, Cu<sup>2+</sup>と S<sup>2-</sup>の共存は定量に妨害したが, グラファイト電極と無電解濃縮法を採用した本法では, これら成分の共存は定量に全く影響しなかった。前濃縮後, 電解液を共存元素を含まない別の塩酸溶液に交換して析出物を溶出すると, Hg<sup>2+</sup>と Cr<sup>6+</sup>の最大許容共存濃度はそれぞれ 1000 及び 500 倍に増加した。van den Berg らの方法<sup>8)</sup>において亜硝酸イオンのピーク高さを著しく低下させた界面活性剤 (Triton X-100) は, 3 μg/ml 共存しても本法では全く妨害しなかった。また, ドデシル硫酸ナトリウムの影響も見られなかった。

### 3.6 塩酸中の亜硝酸イオンの定量

市販されている品質の異なる 3 種類の塩酸を分析した結果を Table 1 に示す。雰囲気からの汚染を防ぐため, 開封直後のそれら塩酸を用いてスルファニルアミドと 1-ナフチルアミン溶液を調製し, 2・3 の定量操作に従って測定して得られた空試験値 (値のすべてが使用した塩酸に起因するものと仮定) から, 塩酸 1 ml 中の亜硝酸イオン濃度を求めた。特級塩酸中の亜硝酸イオン濃度は定量下限に近いためにはばらつきは大きい, 精密分析用及び電子工業用の塩酸に比べて低値であった。この結果は製造工程における雰囲気との接触時間, 試薬の保管方法等の違いによる影響を受けているものと思われる。いずれにせよ, 亜硝酸イオン含有量に限定すれば, 必ずしも上級の試薬のほうが少ないとは限らないことが分かる。分析所要時間は 35 分間以内であった。

以上より, 水はイオン交換/逆浸透後に非沸騰蒸留で, 塩酸は非沸騰蒸留で精製した直後のものを使用することにより空試験値は低く抑えることが可能となる。その結果, 開発した方法は, 強力な発がん性物質である 1-ナフチルアミンを使用するという弱点はあるが, 既存の化学分析法に比べ, 予備濃縮操作なしに nM レベルの亜硝酸イオンを簡易に高感度定量ができる。また, 全操作を酸性溶液中で行うことが可能であり, いろいろな形態の窒素化合物の定量への応用も期待できる。

## 文 献

- 1) 日本分析化学会編: “分析化学便覧”, 第 5 版, p. 309

- (2001), (丸善).
- 2) JIS K 0101, 工業用水試験方法 (1998).
  - 3) A. J. Dunham, R. M. Barkley, R. E. Sievers: *Anal. Chem.*, **67**, 220 (1995).
  - 4) 田中龍彦: 鉄と鋼, **86**, 1 (2000).
  - 5) 田中龍彦: ぶんせき (*Bunseki*), **2001**, 62.
  - 6) L. Guanghan, J. Hong, S. Dandan: *Food Chem.*, **59**, 583 (1997).
  - 7) A. G. Fogg, R. M. Alonso: *Analyst* (London), **113**, 1337 (1988).
  - 8) C. M. G. van den Berg, H. Li: *Anal. Chim. Acta*, **212**, 31 (1988).

---

### 要 旨

酸性溶液中、ジアゾ化-カップリング反応に基づくアゾ化合物を固体電極上に吸着する nM レベルの亜硝酸イオンの示差パルスカソードリッピングボルタンメトリーを開発した。0.4 M 塩酸 (pH 約 0.6) 中、亜硝酸イオン溶液にスルファニルアミド溶液と 1-ナフチルアミン溶液を加えてアゾ化合物を生成させ、無電解 (開回路) でアゾ化合物をグラファイト電極上に濃縮した。次いで 50 mV/s の速度で 0.2 から -0.2 V *vs.* SCE まで電位を走査してボルタモグラムを記録し、ピーク高さから亜硝酸イオン濃度を求めた。-0.05 V *vs.* SCE 付近に良好な単一のピークが得られた。SN 比を向上させるため空試験値の原因について検討した。また、無電解前濃縮法の採用により、共存元素の妨害は大いに抑制され、選択性が向上した。亜硝酸イオンの検量線は 1.1~217 nM で直線となり、65 nM での RSD ( $n=5$ ) は 1.1%、前濃縮時間 5 分間での検出限界は 0.15 nM であった。取り扱いが容易な固体電極を用いた本法は、亜硝酸イオンの簡易な高感度定量法として極めて有用であり、市販塩酸試薬中の亜硝酸イオンの定量に適用して満足な結果を得た。