

## Brucine에 依한 硝酸이온의 吸光光度定量法

韓 藥 植

嶺南大學校 藥學大學 藥學科  
(1974. 8. 21 鑄)

## Spectrophotometric Determination of Nitrate with Brucine

Bo Shik Han

Department of Pharmacy, College of Pharmacy, Yeungnam  
University, Taegu, Korea  
(Received Aug. 21, 1974)

要 約. 特別한 裝置나 複雜한 操作없이 簡單하고 迅速한 brucine 法에 依한 硝酸이온의 吸光光度定量法을 定하였다.

檢液을 brucine 試液과 30 N 黃酸으로 60 °C에서 30 分間 反應시키면 安定하고 再現性이 좋은 發色을 얻을 수 있으며, 410 nm에서 硝酸性窒素의 濃度가 0.07 ppm 부터 0.6 ppm 까지 吸光度와 直線的 關係가 있다. 또 反應系에서 吸光種의 數는 단 하나임을 確認하였다.

妨害이온들중 亞硝酸이온은 メタン을로서 除去할 수 있다.

**Abstract.** A simple and rapid spectrophotometric method has been found for the determination of nitrate content in natural water according to brucine method by means of neither particular apparatus nor troublesome procedures.

Brucine reacted with nitrate in the presence of 30 N sulfuric acid to develop stable color with good reproducibility after 30 minutes reaction at 60 °C.

An essentially linear relationship to the nitrate concentration was observed in the range of 0.07~0.6 ppm at 410 nm, and it was established that the number of absorbing species in the reaction system was only one between 400 and 490 nm.

Among the interferences, nitrite could be removed by the addition of methanol.

### 序 論

硝酸이온의 定量法으로는 phenoldisulfonic acid 法<sup>1</sup>, 還元法<sup>2</sup>, xylenol 法<sup>3</sup> 및 brucine 法等이 있다. Brucine 法은 Winkler, Haase<sup>4</sup>가 開發한 것을 Peech<sup>5</sup>, Noll<sup>6</sup>等 여러 사람이 改良하였다.

이 法은 硝酸이온에 黃酸과 brucine 을 作用시켜 發色하는 黃色을 比色定量하는 것인데 Green-

berg<sup>7</sup>, Jenkins<sup>8</sup>는 Standard Methods<sup>9</sup>를 包含한 大部分의 brucine 法의 誤差가 크고 再現性이 적다고 報告하였다.

Noll<sup>6</sup>은 brucine 試液으로서 2 % brucine-chloroform 을 使用하였고, Fisher<sup>10</sup>는 檢液, brucine 試液, 黃酸의 順序로 加하고 30 °C로 冷却하여 吸光度를 測定하였고, Jenkins<sup>8</sup>는 檢液, 85 % 黃酸, 小量의 sulfanilic acid 를 包含한 brucine

試液의順序로 찬물중탕에서加한後끓는물중탕에서加熱하였고齋藤<sup>11</sup>는 열음물중탕에서 진한黃酸을加한後60°C로加熱하였다.以上과 같은操作으로 진한黃酸을加할때發生하는熱의影響을 적게한 다음 물중탕에서加熱하여熱의供給을均一하게함으로써發色을一定하게 할수있다고하였다. Standard Methods<sup>9</sup>에서는 90%黃酸을使用하여檢液, brucine試液, 黃酸의順序로加하고있으나, 이方法으로는熱의調節이不可能하여結果가不良하여진다고 Jenkins<sup>8</sup>는報告하였다. Greenberg<sup>7</sup>는檢液에 brucine試液과 90%黃酸을加한後10分間어두운곳에放置한 다음 물로稀釋하고, 다시어두운곳에20~30分間放置하였다가吸光度를測定하였다. 한편 brucine과 窒酸이온간의反應生成物에對한研究는 Deyl<sup>12</sup>의報告가있으나 아직그反應機構는不明한點도있다.以上的method들이(1)brucine試液의調製法이一定하지않고, (2)黃酸의濃度와使用量을決定한理由를밝히지않았으며, (3)黃酸을加할때의溫度및加한後의加熱溫度및時間이서로다르고, (4)試藥을加하는順序가一定하지않으며, 또(5)吸光種의數를究明하지않았으므로, 이主題의研究에여러가지困難을주고있다.著者는以上的여러가지條件을檢討하여特別한裝置나複雜한操作없이簡單하고迅速한brucine法에依한天然水中의 窒酸이온의定量法을改良하였다.

## 2. 實驗

### 2.1. 裝置

**Spectrophotometer.** Beckman Model DB-G,吸光cell은 10 mm의 glass cell을使用하였다.

### 2.2. 試藥

本實驗에서使用한 모든試藥은市販分析用試藥을使用하였다.

**Brucine試液.** Brucine 2水化物 1g을 진한黃酸 1mL를加한適當量의물에녹여 100 mL로하였다.

**窒酸이온標準溶液.** 窒酸칼륨 0.7218 g을 물에녹여 1000 mL로하였다. 이溶液은 100 ppm의

窒酸性窒素( $\text{NO}_3^- - \text{N}$ )를含有한다. 이것을適當히稀釋하여標準溶液으로하였다.

**黃酸溶液.** 진한黃酸을稀釋하여 30 N黃酸(83%)으로만들었다.

### 2.3. 標準操作

檢液 1mL(1.25 ppm~10ppm  $\text{NO}_3^- - \text{N}$ )를 50 mL의 유리마개 플라스크에取하여 brucine試液 2 mL를混合하고 30 N黃酸 15 mL를加하여 잘 흔들어주고 마개를한 다음 60°C의恒溫槽에서 30分間유지한 다음 흐르는 물에서 5分間室溫으로冷却한 것을即時波長 410 nm에서蒸溜水를對照로하여吸光度를測定한다.

## 3. 結果 및 考察

**3.1. 吸收曲線.** 黃酸酸性에서 窒酸이온과 brucine과의反應生成物의吸收曲線은 Fig. 1과 같다.曲線 A와 B는  $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 의濃度가各各 0.42 ppm, 0.28 ppm인 것을標準操作 2.3에 따라蒸溜水를對照로하여作成한것이고吸收極大波長은 410 nm이며曲線 C는試藥 blank이다.

試藥을加하는順序가標準操作 2.3의順序와

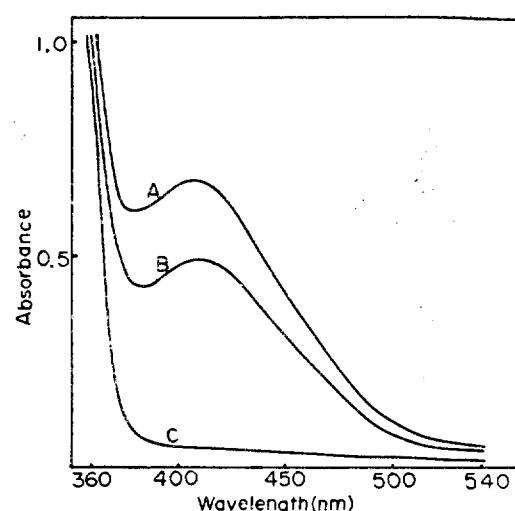


Fig. 1. Absorption spectra of the reaction product of nitrate with brucine.

A: 0.42 ppm  $\text{NO}_3^- - \text{N}$ ; B: 0.28 ppm  $\text{NO}_3^- - \text{N}$ ; C: Reagent blank

달라도 吸光度의 變化는 없었다.

**3.2. 黃酸量의 影響.** Brucine이 黃酸酸性에서 硝酸이온과 反應하여 나타나는 黃色의 安定性과 強度는 黃酸의 濃度 및 使用量과 깊은 關係가 있다.<sup>5~11</sup> 그리고 大多數가 진한 黃酸을 그대로 使用하고 있지만 本實驗에서는 標定한 30 N 黃酸을 使用하였다.

著者の 經驗에 依하면 진한 黃酸을 使用하면 發生하는 熱을 放散시키기 為하여 친물이나 液을 속에서 操作하여야 함은 물론이고 粘度가 크므로 測定이 끝난 cell에 다음 測定液를 넣을 때 不便하고 또 繼續使用하면 glass cell이 損傷되므로 黃酸의 濃度를 낮추어 發熱을 避け하고 cell에 粘着하는 不便을 덜고 또한 cell의 損傷을 防止하였다. 한편 50% 以下의 黃酸으로는 充分히 發色되지 않으므로<sup>5~11</sup> 50, 60 및 70% 黃酸을 使用해 보았으나 良好한 結果를 얻지 못하였다. 이들 濃度에서는 發色은 되지만 보다 높은 溫度로 加熱하여야 하며 安定性, 再現性도 不良하였다.

30 N 黃酸의 使用量을 決定하기 為하여  $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 의 濃度가 5 ppm인 標準溶液 1 ml에 30 N 黃酸을 5 ml부터 20 ml까지 1 ml 間隔으로 加하고 50, 60 및 70 °C에서 각각 標準操作 2.3에

따라 實驗한 結果는 Fig. 2와 같다.

Fig. 2에서 보는 바와 같이 60 °C에서는 黃酸의 量이 6 ml 일때 吸光度는 最高로 되고 그 以上에는 黃酸量의 增加로 因한  $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 의 濃度의 減少로 吸光度가 떨어져서 11~18 ml 사이에서는 거의 直線의으로 變化하고 있다.

即 6 ml 일 때 發色은 限界에 到達하고 차차 安定化되어 11~18 ml에서 가장 安定化되며 그 中間點은 15 ml이었다. 또 50 및 70 °C의 경우에도 安定되는 範圍는 短縮되나 그 中間點은 역시 15 ml이었다. 그러므로 黃酸의 量을 15 ml로 決定하였다.

**3.3. 加熱溫度와 加熱時間의 影響.** 標準操作 2.3에서 黃酸을 加하고 난 다음 加熱溫度와 加熱時間의 最適條件를 알기 為하여  $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 의 濃度를 0.28 ppm으로 하고 加熱溫度를 50, 60 및 70 °C로 하였을 때 加熱時間에 따라 吸光度가 變化하는 모양은 Fig. 3과 같다.

加熱溫度가 60 °C일 때 加熱時間 20 分 以上에서 吸光度가 一定하였으므로 本實驗에서는 加熱時間은 30分으로 定하였다. 加熱溫度가 50 및 70 °C일 때는 加熱時間 60 分 以內에서는 吸光度가 一定해지는 條件은 없었다. 그러므로 實驗 3.2 및 3.3의 結果를 綜合하여 加熱溫度는 60 °C

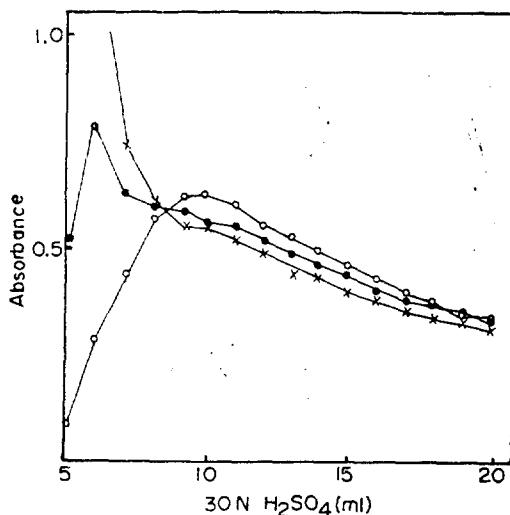


Fig. 2. Effect of amounts of  $\text{H}_2\text{SO}_4$  added on absorbance.

○: 59 °C; ●: 60 °C; ×: 70 °C

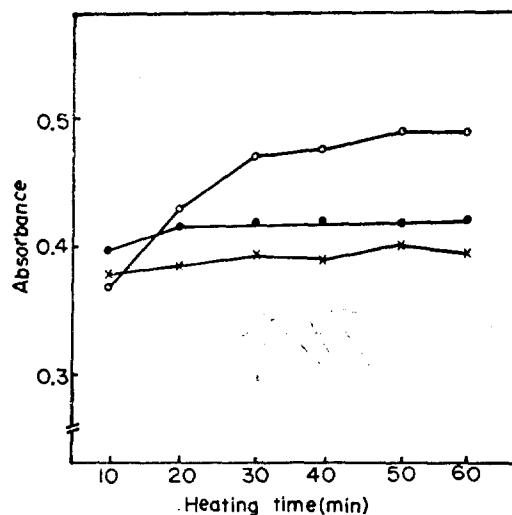


Fig. 3. Effect of heating time and temperature on absorbance.

○: 50 °C; ●: 60 °C; ×: 70 °C

로決定하였다.

**3.4. Brucine量의影響.** 標準操作 2.3 중에서 brucine試藥의量만變化시켜 brucine量과吸光度와의關係를調査하였다. 그結果를 Fig. 4에圖示하였다. Fig. 4에서 보는 바와같이 brucine試液 1.5 ml以上에서吸光度는一定함으로 brucine試液의使用量을便宜上 2 ml로하였다.

**3.5. 吸光度의經時變化.** 加熱操作이 끝난것을흐르는 물에서 5分間冷却한 다음吸光度를測定할 때까지의經時變化를實驗하여보니 70分經過해도吸光度의變化는 거의 없었으나即時吸光度를測定하기로定하였다.

**3.6. 檢量線.** 以上的여러條件을檢討한結果標準操作 2.3을決定하였고,  $\text{NO}_3^-$ -N의濃度를變化시켜蒸溜水를對照로하여檢量線을作成한것이Fig. 5이다.  $\text{NO}_3^-$ -N의濃度가 0.07~0.6 ppm의範圍에서吸光度와檢液中의  $\text{NO}_3^-$ -N의濃度는直線關係에있고再現性이良好함으로이範圍에서  $\text{NO}_3^-$ -N의定量이可能하다.

그리고本法의精密度를調查하기爲하여  $\text{NO}_3^-$ -N의濃度를 0.28 ppm으로一定하게하고 12回實驗한結果平均吸光度 0.433에 있어서標準偏差은 0.005<sup>o</sup>고相對誤差는 1.2%이었다.

**3.7. 吸光種의數.** 吸光種의數를確認하는여

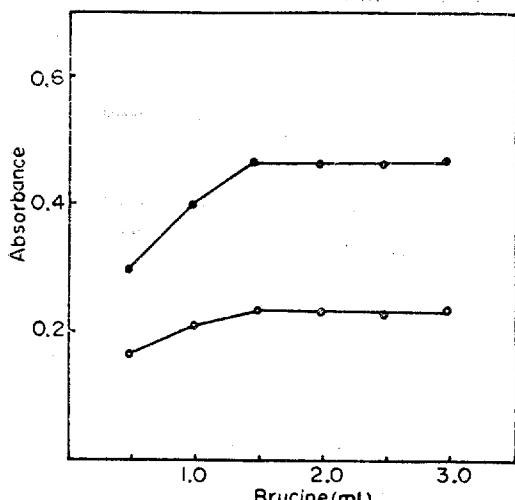


Fig. 4. Effect of amounts of brucine reagent added on absorbance.  
●: 0.28 ppm  $\text{NO}_3^-$ -N; ○: 0.14 ppm  $\text{NO}_3^-$ -N

러가지方法<sup>13~17</sup>中簡單한 J. S. Coleman<sup>18</sup>의 graphical method를本法에適用하였다.

$\text{NO}_3^-$ -N의濃度가 0.07, 0.14, 0.28 및 0.42 ppm인溶液을標準操作 2.3의方法으로波長

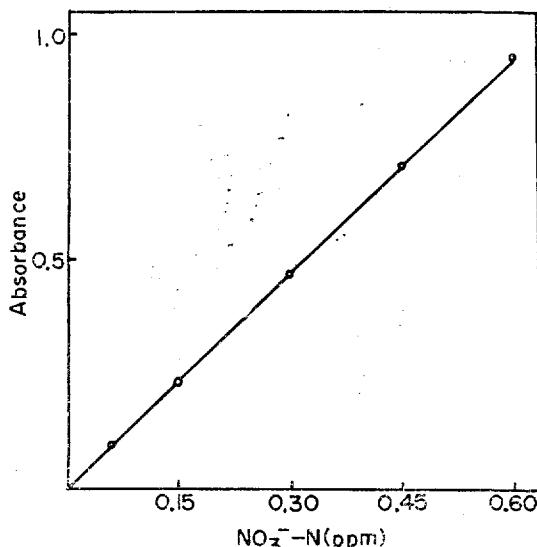


Fig. 5. Calibration curve for nitrate nitrogen according to procedure 2.3.

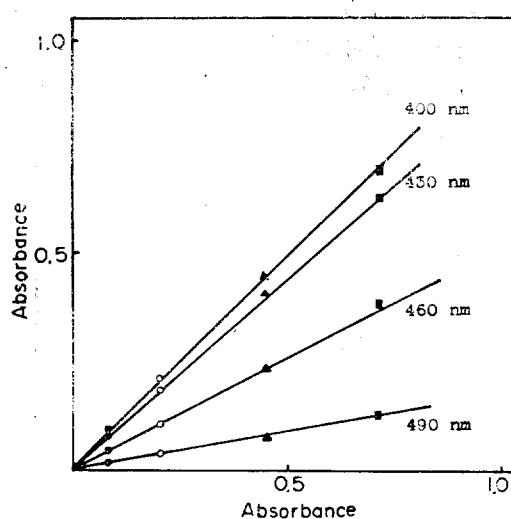


Fig. 6. Identification of existence of only one absorbing species by J. S. Coleman's graphical method. The absorbance at 400, 430, 460, and 490 nm is plotted against the absorbance at 410 nm of each solution of 0.07 (●), 0.14(○), 0.28(▲), and 0.42(■) ppm  $\text{NO}_3^-$ -N.

Table 1. Tolerance limit for diverse ions.

Ion added	Addedas	Tolerance limit(ppm)
Na <sup>+</sup>	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	>5000
K <sup>+</sup>	KCl	2000
Mg <sup>2+</sup>	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	>5000
Ca <sup>2+</sup>	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	1000
Fe <sup>2+</sup>	FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	5
Fe <sup>3+</sup>	Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> ·xH <sub>2</sub> O	5
Cu <sup>2+</sup>	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	2000
Zn <sup>2+</sup>	ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	>5000
Pb <sup>2+</sup>	Pb(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> ·3H <sub>2</sub> O	100
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	KHCO <sub>3</sub>	>5000
F <sup>-</sup>	NaF	>5000
Cl <sup>-</sup>	NaCl	2000
Br <sup>-</sup>	KBr	10
I <sup>-</sup>	KI	5

400, 430, 460 및 490 nm에서 각각 吸光度를 测定한 것을 縱軸으로 하고 410 nm의 吸光度를 橫軸으로 한 것이 Fig. 6이다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 直線들이 原點에 모임으로 이 反應系의 吸光物質의 數는 하나임이 確實하다.

3.8. 共存이온의 影響. 檢液中의 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>—N의濃度가 0.28 ppm 일 때 吸光度에 ±3 % 以內의誤差를 주는 共存이온들의 許容界限를 Table 1에 表示하였다.

Na<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> 및 F<sup>-</sup>等은 正誤差를, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup> 및 I<sup>-</sup>等은 負誤差를 주며 Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup> 및 I<sup>-</sup>가 가장 큰 誤差를 준다.

우리나라 天然水中의 HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>의濃度는 대략 100 ppm 以下<sup>19</sup>, Cl<sup>-</sup>은 20 ppm 以下<sup>19~21</sup>, F<sup>-</sup>은 1 ppm 以下<sup>21</sup>, Br<sup>-</sup>은 0.1 ppm 以下<sup>21</sup>이고 I<sup>-</sup>은 0.01 ppm 以下<sup>21</sup>임으로 本法에서는妨害가 되지 않는다.

亞窒酸이온은 少量이라도 妨害가 됨으로 除去하여야 한다. 이것을 除去하기 為하여 Robinson等<sup>22</sup>은 aminosulfonic acid를 使用하고 있으나 本法에서는 檢液10 ml에 對하여 10 % 黃酸 1 ml 및 메탄을 1 ml를 加하고 生成되는 methylnitrite(CH<sub>3</sub>ONO, bp. -12 °C)를 除去하기 為하여 約 3分間 空氣를 通한다. 이 方法은 100 ppm

의 共存亞窒酸이온을 完全히 除去할 수 있는 効果의인 方法이다.

#### 4. 結論

30 N 黃酸을 使用하여 發熱로 因한 發色의 不安定性을 痛烈하게 함으로써 60 °C 물중당中에서 30 分間加熱할 때 安定된 發色을 얻을 수 있고 한시간 정도 安定하며 이 反應系에서 吸光種의 數는 하나이다.

다른 brucine 法들은 溫度條件이 까다롭다면지 經時變化가 크다던지 또는 친한 黃酸을 使用하여야 하는 等의 缺點이 있어서 特히 多數의 檢液을 一時에 定量할 때 큰 지장이 있다.

이에 反해서 本法은 黃酸의 濃度 30 N, 加熱溫度 60 °C 및 加熱時間 30 分等 實驗條件이 適當하고 安定性, 再現性이 良好하며 또 妨害되는 陽이온들은 이온交換樹脂法으로, 亞窒酸이온은 메탄을로서 除去할 수 있음으로 天然水中의 窒酸이온을 定量하는데 適合한 方法이다.

#### References

- E. M. Chamot and D. S. Pratt, *J. Amer. Chem. Soc.*, 32, 630(1910).
- B. Wolf, *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 19, 334 (1947).
- A.C. Holler and R.V. Huch, *Anal. Chem.*, 21, 1385(1949).
- L.N. Winkler, *Chem. Zantr.*, 23, 454(1899); L.W. Haase, *Chem. Ztg.*, 50, 372(1926).
- M. Peech and L. English, *Soil Sci.*, 57, 167 (1944).
- C. A. Noll, *Ind. Eng. Chem., Anal. Ed.*, 17, 426(1945).
- A. E. Greenberg, et al., *J. Amer. Water Works Assoc.*, 50, 821(1958).
- D. Jenkins and L.L. Medsker, *Anal. Chem.*, 36, 610(1964).
- "Standard Methods for the Examination of Water and Sewage," 11th Ed., p. 175, American Public Health Association, Inc., New York, 1960.
- F.L. Fisher, et al., *Anal. Chem.*, 30, 1972

- (1958).
11. G. Saito, *et al.*, *Japan Analyst*, **20**, 542(1971).
  12. Z. Deyl and M. Effenberger, *Collection Czechoslov. Chem. Commun.*, **24**, 3763(1959)
  13. R. M. Wallace, *J. Phys. Chem.*, **64**, 899 (1960).
  14. J. C. Sternberg, *et al.*, *Anal. Chem.*, **32**, 84 (1960).
  15. S. Ainsworth, *J. Phys. Chem.*, **65**, 1968 (1961).
  16. R.M. Wallace and S.M. Katz, *J. Phys. Chem.*, **68**, 3890(1964).
  17. D. Katakis, *Anal. Chem.*, **37**, 876(1965).
  18. J. S. Coleman, *et al.*, *Inorg. Chem.*, **9**, 1015(1970).
  19. W.K. Park, *et al.*, *J. Korean Chem. Soc.*, **13**, 401(1969)
  20. K.J. Whang, *J. Korean Chem. Soc.*, **12**, 163 (1968).
  21. a) Y. K. Lee, *J. Korean Chem. Soc.*, **14**, 5 (1970);  
b) Y. K. Lee, *ibid.*, **16**, 219(1972).
  22. J. B. D. Robinson, *et al.*, *Analyst*, **84**, 635 (1959).