

公共用水の水質に関する衛生化学的研究 (第6報^{*1})
 サリチル酸ナトリウム法による水中の硝酸性窒素の定量法

菅野 三郎, 福井 昭三, 金子 幹宏
 神奈川県衛生研究所^{*2}

Hygienic-chemical Studies on Public Water. VI.^{*1}
 Determination of Nitrate Nitrogen in Water by Sodium Salicylic Acid Method.

SABURO KANNO, SYOZO FUKUI and MIKIHIRO KANEKO
 Kanagawa Prefectural Public Health Laboratory^{*2}

(Received October 14, 1967)

It was found that the sodium salicylic acid method is more excellent in point of reproducibility and simplicity than the other methods for the determination of nitrate nitrogen in water.

Furthermore, the authors improved the precise conditions of procedures of the method, for example, the prevention of the interference of chloride ion and nitrite ion.

The interference by chloride ion was prevented by the addition of the excess quantity of sodium chloride and that by nitrite nitrogen was also prevented by the addition of ammonium sulfamate.

It was also ascertained that the method is not interfered by 50 ppm of ferrous or ferric ion, 2000 ppm of calcium and magnesium salts, 250 ppm of ammonia nitrogen and 500 ppm of free chlorine.

The details of the procedure are as follows.

Take V ml of the test solution containing 2~20 μg of nitrate nitrogen and 2 ml of the standard solution, in which 20 μg of nitrate nitrogen are contained, in the 100 ml beaker respectively. To each solution add 1 ml of sodium salicylic acid-sodium hydroxide solution, which is prepared by dissolving 1 g of sodium salicylic acid in 100 ml of 0.01 N sodium hydroxide solution, 1 ml of ammonium sulfamate aqueous solution (0.1→100) and 1 ml of sodium chloride aqueous solution (0.2→100), then evaporate the solution to dryness on the water bath. After cooling to room temperature, add 2 ml of concentrated sulfuric acid, agitate gently sometimes and allow to stand for ten~twenty minutes. When the large quantity of the residue remains by evaporation, it might be better that the sulfuric acid solution is heated on the water bath for ten~twenty minutes. The absorbance is not influenced by heating. After adding carefully 10 ml of distilled water, transfer the solution to the 50 ml Nessler tube and add dropwise 10 ml of the sodium hydroxide solution (40→100) under cooling, then dilute to 25 ml with water. Measure the absorbance A obtained from the test solution and A_s obtained from the standard solution at the wave length of 410 $m\mu$ against the blank solution procedured in the same way. Concentration of nitrate nitrogen (C ppm) in the test solution was given by the following formula.

$$C \text{ (ppm)} = 0.02 \times \frac{A}{A_s} \times \frac{1000}{V}$$

1. まえがき

水中の硝酸性窒素の定量法のうち、ニトロ化反応を利

用する方法として大別するとつぎの2種類になると考えられる。

*1 第5報: 村井絢子, 谷 孝之, 内藤昭治, 福井昭三, 菅野三郎, 衛生化学, 11, 34 (1965).

*2 横浜市保土ヶ谷区中尾町52, Nakao-cho, Hodogaya-ku, Yokohama.

(1) 試料の水を一定量とり蒸発乾固したのち、呈色操作に入る方法。

サリチル酸ナトリウム法¹⁾
 フェノールジスルホン酸法²⁾

(2) 試料の水を蒸発乾固しないで呈色操作に入る方法
ブルシン法³⁾

β-メチルウンベリフェロン法⁴⁾

クロモトロブ酸法⁵⁾

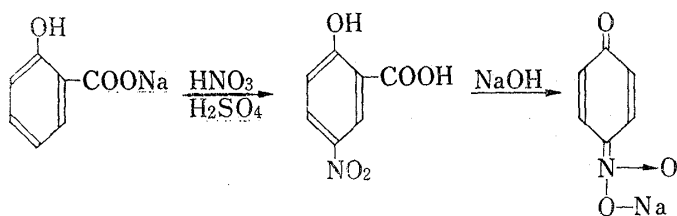
2,6-キシレノール法⁶⁾

上記2つの方法のうち、(1)の方法は試料水の一定量を蒸発乾固したのち、操作を行なうので低濃度の硝酸性窒素も測定することができる特長がある。しかし反面妨害イオンによる影響が起こり得ることも慎重に配慮しなければならない。フェノールジスルホン酸法についてはサリチル酸ナトリウム法に比べて感度が $\frac{2}{3}$ であり、また共存する塩素イオンによる妨害除去の操作が煩雑である。

ブルシン法は水道法に記載されており、亜硝酸イオンおよび塩素イオンによる妨害除去の操作が配慮されているが、加熱操作における加熱温度の小さな差異が吸光度に影響をおよぼす。

サリチル酸ナトリウム法は Spaander⁷⁾ によればオランダの公定法として使用されており、操作の英訳を入手する機会を得た⁸⁾ が、硫酸および水酸化ナトリウム溶液の使用量、加温の有無の影響などに関する反応条件の設定にやや不明確な点があり、また妨害イオンについても配慮されていない。そこで今回著者等はサリチル酸ナトリウム法について、種々検討を加え反応条件を明確にし、妨害イオンとしての亜硝酸イオンおよび塩素イオンの妨害除去の操作を加え、さらに硬度、鉄などによる妨害のないことを確認し、さらに本法は試験条件および操作は緩和かつ簡便であり、再現性も高いことを知ったので報告する。なお他の方法の得失については今後検討する予定である。

本法の原理はつぎのとおりである。硝酸性窒素によって硫酸存在下サリチル酸ナトリウムをニトロ化し、ここに生じた、ニトロサリチル酸をアルカリでキノイド型にし、そのとき生じた呈色度を比色するものである。



2. 定量試験法

サリチル酸ナトリウム法

〔試薬〕 ①サリチル酸ナトリウム・水酸化ナトリウム試液：サリチル酸ナトリウム 1 g を 0.01 N 水酸化ナトリウム液に溶かして 100 ml とする。

② スルファミン酸アンモニウム溶液：スルファミン酸

アンモニウム 0.1 g を水に溶かして 100 ml とする。

③ 塩化ナトリウム溶液：特級塩化ナトリウム 0.2 g を水に溶かして 100 ml とする。

④ 硫酸：市販品特級を用いる。

⑤ 硝酸性窒素標準溶液：あらかじめ 105~110° で約 4 時間乾燥した硝酸カリウム 0.7218 g を量り、水に溶かして全量を 1000 ml とし、原液とする。原液 100 ml を別のメスフラスコにとり、水で全量を 1000 ml とする。

硝酸性窒素標準溶液 1 ml = 0.01 mg NO₃⁻ - N

〔試験操作〕 試料 v ml (硝酸性窒素 2~20 μg を含むもの) および硝酸性窒素標準溶液 2.0 ml をそれぞれ別の 100 ml のビーカーにとり、サリチル酸ナトリウム・水酸化ナトリウム試液 1 ml、塩化ナトリウム溶液 1 ml およびスルファミン酸アンモニウム溶液 1 ml を加え、水浴上で蒸発乾固する。冷後、硫酸 2 ml を加え、ときどき振り混ぜながら 10 分間放置し (蒸発残留物が多量の場合は、水浴上 10 分間加熱し、放冷後)、水 10 ml を加えネスラー管に移す。冷後徐々に水酸化ナトリウム溶液 (40→100) 10 ml を加え、さらに水で全量 25 ml とし、冷後約 410 mμ 付近の極大吸収波長において吸光度を測定し、A および As とする。対照液は水について同様操作したものを用いる。試料溶液中の硝酸性窒素濃度 C (ppm) は次式によって算出する。

$$C \text{ (ppm)} = 0.02 \times \frac{A}{A_s} \times \frac{1000}{v}$$

発色液を 20° 以下に放置すると硫酸ナトリウムの結晶の沈でんを生じることもあるが、そのような場合には上澄液について吸光度を測定する。結晶析出前後の吸光度には差異がない。

3. 実験結果および考察

3.1. 呈色試薬としてサリチル酸ナトリウムおよび他のフェノール類を用いた場合の吸光度の比較

TABLE I Absorption Maxima and Absorbances of Colored Solutions Obtained by the Use of Several Kinds of Phenols as the Reagent

Phenols	Absorption Maxium	Absorbance
Sodium Salicylic Acid	410 ^{mμ}	0.690
2,6-Xylenol	430	0.420
Phenoldisulfonic Acid	410	0.420
2-Hydroxy-3-Naphthoic Acid	440	0.330
Thymol	395	0.395
Resorcinol	395	0.320
β-Methylumbelliferone	410	0.400
p-Hydroxybenzoic Acid	410	0.450

(NO₃⁻ - N : 20 μg/2ml)

サリチル酸ナトリウムおよび他のフェノール類数種を選び、硝酸性窒素標準溶液2.0mlをとり、試験操作に準じて操作して発色させその吸収極大波長および極大波長における吸光度を調べ TABLE I の結果を得た。

すなわち、ここに用いたフェノール類のうちでは、サリチル酸ナトリウムが最も高感度を示した。

3.2. 硫酸と水酸化ナトリウムとの使用量の吸光度におよぼす影響

サリチル酸ナトリウムをニトロ化するさいの硫酸とキノイド型にして発色させるときの水酸化ナトリウム溶液との最適値について実験を行ない TABLE II の結果を得た。

TABLE II Effect of Amounts of Sulfuric Acid and Sodium Hydroxide Solution on Absorbance

Volume of Sulfuric Acid (ml)	Volume of Sodium Hydroxide Solution (40→100) (ml)	Absorbance	
1	4	0.665	0.670
1	8	0.685	0.675
2	8	0.695	0.690
2	10	0.695	0.690

(NO₃⁻-N: 20μg/2ml)

オランダの公定法によれば、硫酸の使用量は1mlとなっているが TABLE II からわかるとおり、硫酸量は1mlよりも2mlの方が若干高い吸光度を示すこと、および1mlよりも2mlの方が蒸発残留物との接触を万遍なくなし得ることを考慮して2mlを採用することとした。また中和に要する水酸化ナトリウム溶液(40→100)は8mlでも10mlでも吸光度に差はなかったが、発色はアルカリ性で始めて生じるので安全をみこし、10mlとした。

3.3. サリチル酸ナトリウム溶液にアルカリを添加した場合の影響

試料溶液を蒸発乾固するさい、試料溶液が酸性であると遊離の硝酸が揮散するおそれがあるので、サリチル酸ナトリウム・水酸化ナトリウム試液を添加しアルカリ性

TABLE III Effect of Addition of Sodium Hydroxide in Test Water on Absorbance

Sodium Salicylic Acid-0.01N Sodium Hydroxide Solution		Sodium Salicylic Acid Aqueous Solution	
0.690	0.690	0.690	0.695
0.695	0.690	0.695	0.700

(NO₃⁻-N: 20μg/2ml)

として硝酸の揮散を防止することにした。水で調製したサリチル酸ナトリウム溶液と水酸化ナトリウム液で調製したサリチル酸ナトリウム溶液を用いて、硝酸性窒素標準溶液2mlについてそれぞれ試験操作に準じて発色させた場合の吸光度を TABLE III に示す。

TABLE III の結果から両者とも吸光度に差異がないので、0.01N水酸化ナトリウム液を添加しても定量に影響しないことがわかった。

3.4. 硫酸添加後の加温の影響

硫酸添加後、加温する必要性の有無を知るためにつきの実験を行なった。すなわち、硝酸性窒素標準溶液2mlについてサリチル酸ナトリウム・水酸化ナトリウム試液を加えて蒸発乾固したのち、硫酸を加えてニトロ化反応を行なうさいに、ふつとう水浴上で加温した場合と室温に放置した場合の吸光度を調べ TABLE IV の結果を得た。

TABLE IV Effect of Heating on Absorbance

	Absorbance
Heating on the Water	0.690
Bath for Ten Minutes	0.690 0.685 0.690
Standing at the Room	0.685 0.690
Temperature for Ten Minutes	0.690 0.685

(NO₃⁻-N: 20μg/2ml)

TABLE IV の結果から、両者の吸光度に差がみられなかった。したがって通常室温に10分間放置すればよいが、蒸発残留物が多量の場合には、反応の均一性を期待する意味で、加熱操作を加えた方がよいであろうと考える。

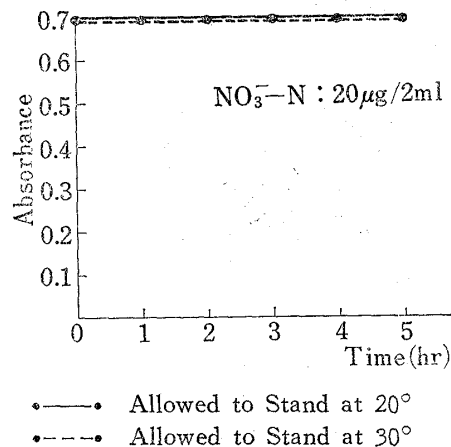


Fig. 1 Stability of Color

3.5. 呈色の安定性

呈色の安定性を 20° および 30° において調べた結果を Fig. 1 に示す。

発色後 5 時間まで実験を行なったが、その間の吸光度は安定であった。

3.6. 吸収曲線

硝酸性窒素標準溶液 2 ml についての吸収曲線を Fig. 2 に示す。

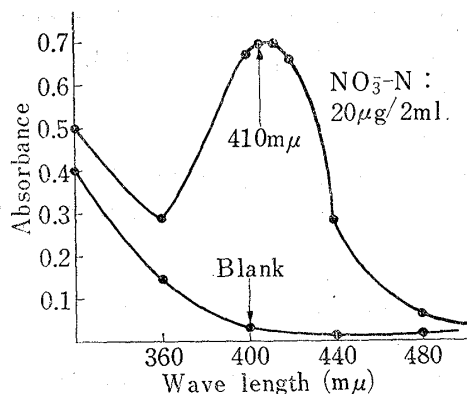


Fig. 2 Absorption Spectra of the Solution Developed by Sodium Salicylic Acid Method

極大吸収波長は 410 mμ 付近である。

3.7. 検量線とその再現性

本法における検量線を Fig. 3 に、各標準系列の吸光度の標準偏差および変動係数を TABLE V に示す。

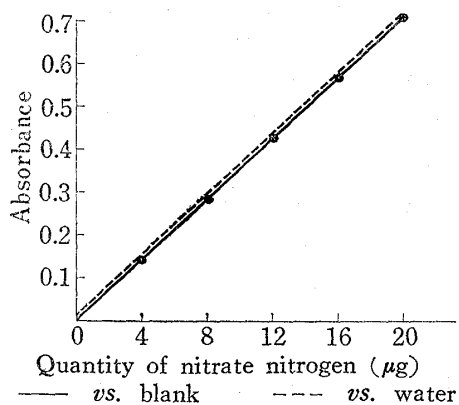


Fig. 3 Calibration Curve of Nitrate Nitrogen Obtained by Sodium Salicylic Acid Method

TABLE V Reproducibility

NO ₃ ⁻ -N Concn. 10 μg/ml	Average of* Absorbance(\bar{x})	Standard Deviation(σ)	$\sigma/\bar{x} \times 100$ (%)
0.4	0.150	0.002	1.33
0.8	0.294	0.002	0.69
1.2	0.435	0.002	0.46
1.6	0.577	0.002	0.34
2.0	0.688	0.004	0.58

*Average of 10 runs

検量線は Beer の法則に従う。また吸光度のバラツキは約 1% 以下であり、再現性も良好である。

3.8. 妨害イオンの影響

水中には種々の陽イオン、陰イオンなどが共存しているが、特に定量を妨害する可能性のある亜硝酸性窒素、塩素イオン、第一鉄イオン、第二鉄イオン、硬度、アンモニア性窒素、残留塩素などについて妨害の影響を調べた。

3.8.1. 亜硝酸性窒素

亜硝酸性窒素の影響は Fig. 4 に示すようであり、硝酸性窒素に比べて吸光度は約 1/5 位であり、正に妨害する。

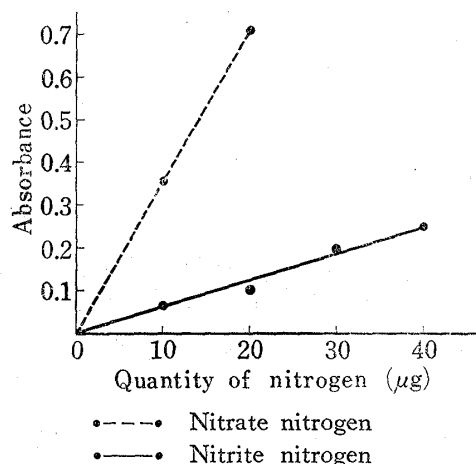


Fig. 4 Comparison between Calibration Curves of Nitrate Nitrogen and Nitrite Nitrogen

そこで、亜硝酸除去剤としてスルファニル酸、スルファミン酸、スルファミン酸アンモニウム、ナトリウムアザイドなどを添加し、硝酸性窒素 20 μg に対して、亜硝酸性窒素 40 μg を加え、試験操作に準じて実験を行ない TABLE VI の結果を得た。

TABLE VI Effect of Elimination of Nitrite Nitrogen by the Use of Several Kinds of Eliminators

	Non-eli- minator	Sulfa- nilic Acid*1	Sulfamic Acid*1	Ammo- nium Sulfa- mate*1	Sodium Azide*1
20 μg NO ₃ ⁻ -N	0.690	0.165	0.690	0.690	0.685
NO ₂ ⁻ -N	0.685	0.150	0.685	0.690	0.685
Free	0.690	0.160	0.690	0.680	0.690
20 μg NO ₃ ⁻ -N	0.920	0.160	0.690	0.690	0.690
40 μg NO ₂ ⁻ -N	0.935	0.150	0.685	0.685	0.685
	0.940	0.165	0.685	0.690	0.690
NO ₃ ⁻ -N Free	0.240		0.015	0.020	0.020
	0.250		0.020	0.035	0.030
40 μg NO ₂ ⁻ -N	0.230		0.030	0.015	0.015

*1 1 ml of 0.1% solution added

スルファニル酸は硝酸性窒素の定量を負に妨害することがわかったが、他のスルファミン酸、スルファミン酸アンモニウムおよびナトリウムアザイドはいずれも 0.1% 溶液 1 ml の添加では定量を妨害することなく、亜硝酸イオンの除去効果も完全であった。そこで、試料溶液の液性を変えないものとしてスルファミン酸アンモニウムを採用した。

3.8.2. 塩素イオン

塩素イオン量と吸光度の関係を Fig. 5 に示す。

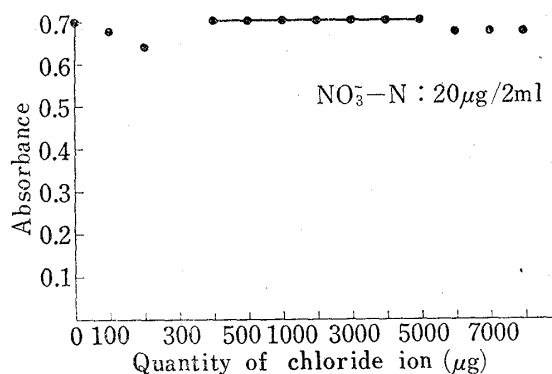


Fig. 5 Effect of Amount of Chloride Ion on Absorbance

塩素イオン量 100 μg および 200 μg のときは定量を妨害する。すなわち、塩素イオン量 200 μg のときは、塩素イオンゼロのときに比べて約 8% の吸光度の低下がみられた。また塩素イオン量が 400~5000 μg のときはほとんど妨害しない。以上の結果から、試料中の塩素イオン濃度が 50~100 ppm のときは妨害し、200~2500 ppm では妨害しないことがわかった。また、通常飲料水中の塩素イオン濃度は 10~200 ppm である。そこで、塩素イオン 1000 μg 程度を添加して妨害をマスクする方法を用い。

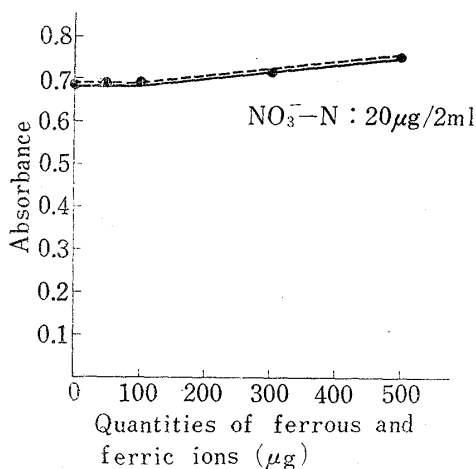


Fig. 6 Effect of Amounts of Ferrous and Ferric Ions on Absorbance

試験操作には 0.2% 塩化ナトリウム溶液 1 ml (Cl^- として 1219 μg) を添加することにした。

3.8.3. 第一鉄および第二鉄イオン

第一鉄および第二鉄イオンが吸光度におよぼす影響を Fig. 6 に示す。

Fig. 6 の結果から、第一鉄および第二鉄イオンとも 100 μg まで妨害しない。それ以上共存すると水酸化鉄の沈でんを生じる。また操作の初期の段階で第二鉄イオンとサリチル酸と反応して、錯化合物を生じ紫色を呈するが、硫酸を加える段階で錯化合物が分解して吸光度には影響を与えない。

3.8.4. 硬度

硬度についてカルシウム塩 (CaCO_3 として) およびマグネシウム塩 (MgCl_2 として) について妨害の有無を調べ Fig. 7 に示す結果を得た。

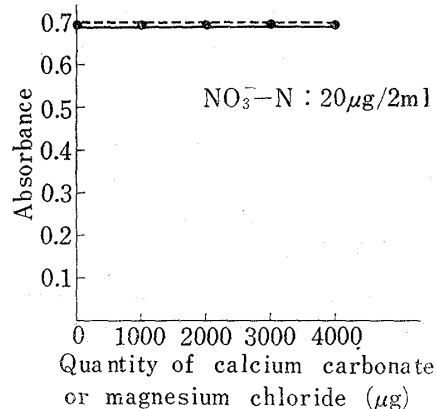


Fig. 7 Effect of Amount of Calcium Carbonate or Magnesium Chloride on Absorbance

カルシウム塩およびマグネシウム塩とも 4000 μg まで添加したが吸光度には全く影響はなかった。

3.8.5. アンモニア性窒素

アンモニア性窒素の吸光度におよぼす影響について Fig. 8 に示す。

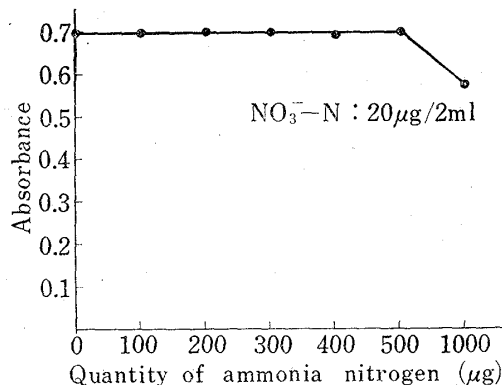


Fig. 8 Effect of Amount of Ammonia Nitrogen on Absorbance

アンモニア性窒素は 500 μg まで妨害しない。それ以上共存すると負に妨害する。

3.8.3. 残留塩素

残留塩素の吸光度におよぼす影響について Fig. 9 に示す。

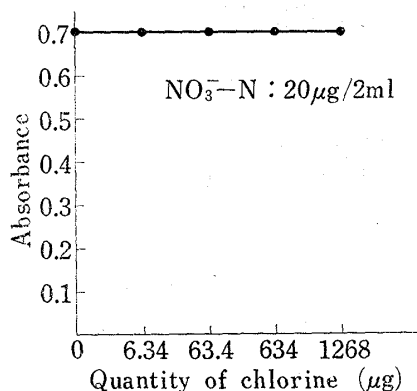


Fig. 9 Effect of Amount of Free Chlorine on Absorbance

塩素は 1000 μg 共存しても妨害しない。この理由としては、試料を蒸発乾固するさいに遊離塩素が分解揮散するためである。

4. むすび

サリチル酸ナトリウム法による硝酸性窒素定量時の諸条件について検討し、定量法を確立した。この方法はつぎのような利点を持っている。

(1) 蒸発乾固法であるから定量感度は高い。すなわち試料溶液 2 ml の場合 0.5 ppm, 20 ml の場合 0.05 ppm まで定量可能である。

(2) 定量操作が簡便であり、定量精度、再現性もすぐれている。

(3) スルファミン酸アンモニウムの添加により、亜硝

酸性窒素が共存しても全く妨害しない。

(4) 一定量以上の塩素イオンを添加して、塩素イオンによる妨害を除去する方法をとったので、1500ppm 程度以下の塩素イオンが共存しても定量に影響しない。

(5) 第一鉄および第二鉄イオンの妨害は認められない。したがって鉄分の多い試料についても直ちに定量することができる。

(6) カルシウム塩およびマグネシウム塩の共存は定量を妨害しない。したがって、硬度の高い水でも支障はない。

(7) アンモニア性窒素および残留塩素は妨害しない。

文 献

- 1) G. Loof, *Pharm. Zentralhalle*, **31**, 700 (1890); H. Caron, P. Paguet, *Bull. Soc. Chim.*, [4] **7**, 1025 (1910).
A. Tingle, *J. Soc. Chem. Ind.*, **34**, 393 (1915) [C. A., **8**, 2024 (1915)].
- 2) M. B. Jacobs: *The Chemical Analysis of Air Pollutants* (1960).
- 3) David Jenkins, Lloyd L. Medsker, *Anal. Chem.*, **36**, 610 (1964).
- 4) J. J. Skujins, *Anal. Chem.* **36**, 241 (1964).
- 5) J. J. Batten, *Anal. Chem.* **36**, 939 (1964).
- 6) A. M. Hartley, R. I. Asai, *Anal. Chem.* **35**, 1207 (1963).
- 7) Spaander, Chief of Environmental Division, National Institute of Public Health, Bilthoven, Netherlands.
- 8) 著者の一人菅野が7)の上記研究所訪問時 Dr. Spaander から手交されたもの。