報 文

アルカリ性ペルオキシ二硫酸カリウム分解/フェノールを用いる 吸光光度法による水試料中の全窒素の測定

郷 康 弘*

Determination of total nitrogen in water samples by spectrophotometry
using phenol after alkaline peroxodisulfate digestion

Yasuhiro GOU*

*The Kumamotoshi Eastern Purification Center, 536, Akita, Akitsumachi, Kumamoto 861-2105

(Received 19 February 2001, Accepted 12 May 2001)

A simple and rapid method was proposed for the spectrophotometric determination of total nitrogen in sewage, seawater and river-water samples. Water samples were taken into glass bottles with screw caps coated with teflon, and the bottles were then sealed with screw caps after addition of potassium peroxodisulfate; were heated at 120°C for 30 min. During heating, all nitrogen compounds were quantitatively oxidized into nitrate. The determination of the resulting nitrate was performed by measuring the absorbances at 380 nm after an oxime formation reaction with phenol. The proposed method was applied to the determination of total nitrogen in sewage, seawater and river water samples. The results correlated well to those determined by the UV method (JIS method) or a total nitrogen analyzer (JIS method). The proposed method has some advantages over other methods, since the amounts of total nitrogen can be semiquantitatively evaluated by a visual observation of developed yellow color.

Keywords : total nitrogen; phenol; sewage; spectrophotometry; nitrate.

1 緒 言

全窒素は、環境水域において、全リン同様に富栄養化の原因物質である。水質汚濁防止法¹⁾では、窒素含有量として規制され、生活環境の保全が図られている。生活環境項目に係る一律排水基準における窒素含有量の許容限度は、特定施設から公共用水域に排出される排水の場合、120 mg/l (日間平均 60 mg/l) である。下水道終末処理施設もこの法律では特定施設である。環境基本法でも、全窒素の環境基準は設定されている。全窒素、窒素含有量の測定方法は、JIS²⁾ の全窒素測定方法にゆだねられ、海域の全窒素の測定においては、銅・カドミウムカラム還元法が採用され、窒素含有量の測定方法は紫外線吸光光度法、カドミウムカラム還元法などが測定方法として取り上げられている。銅・カドミウムカラム還元法は、共存する塩濃度により還元率が変動する欠点があり、カラムの流出液中にカ

ドミウムイオンが含まれるなどの問題がある³⁾。JIS に定められた試験方法との整合性を重視している下水道試験方法⁴⁾の試験項目にも全窒素がある。この試験項目の分析方法として、簡易な紫外線吸光光度法が通常業務に応用されている。この方法は、未分解の有機物及び鉄、クロムなどの紫外部領域での幅広い吸収のため、220 nm における測定の際、正の妨害となり、240 nm で補正しなければならないとの報告もある^{5)~7)}。また、ヒドラジン還元法といった硝酸イオンを亜硝酸イオンに還元して測定する方法もあるが、下水と成分の近い尿浄化槽の二次処理水の場合には、応用できない⁸⁾。

先に、天然水における亜硝酸性窒素と硝酸性窒素の和の定量に、塩化物存在下のフェノールのオキシム形成反応を利用した定量法を提案した⁹⁾。本研究では、下水・海水の全窒素の測定、並びに汚水処理された工場・家庭排水が含まれた河川中の窒素含有量への定量化に導入を試みた。

* 熊本市東部浄化センター: 861-2105 熊本県熊本市秋津町秋田 536

2 実 験

2・1 試薬及び装置

硝酸性窒素標準溶液: 硝酸性窒素標準液 (100 mg/l, 和光純薬製) を希釈して使用した。

塩酸 (1 + 15): 塩酸 (特級, 和光純薬製) 20 ml を水 300 ml に加えた。

水酸化ナトリウム-ペルオキシ二硫酸カリウム溶液: 水酸化ナトリウム (窒素測定用, 関東化学製) 40 g を水 1000 ml に溶かした後, ペルオキシ二硫酸カリウム (窒素・リン測定用, 関東化学製) 30 g を溶かした。なお, この溶液は使用時に調製した。

分解瓶: 容量約 100 ml のスクリュキャップ付きの耐圧ガラス瓶 (スクリュキャップのパッキングはテフロン製であること) で, 高圧蒸気滅菌器で利用できるもの。

高圧蒸気滅菌器: 約 121℃ に加熱できるもの。

全窒素分析装置: 柳本製作所製 TN-7 を用いた。これは接触熱分解/化学発光法で, フィルター通過後の空気をキャリアーガスとして, 約 800℃ に加熱した金属酸化物上に試料を注入することにより, 試料中の窒素は有機・無機を問わず, 一酸化窒素 (NO) に酸化分解される。NO 分析部でオゾンによる酸化反応で, 590～2500 nm の波長帯の光を発するので, これを光電子倍增管で受光し, 増幅して指示計で指示を読み取った。

栓付き比色管: 50 ml までの目盛り付きで, 容量が 70 から 80 ml ぐらいの栓付き比色管。

その他: 著者が前回用いた試薬及び装置を用いた。

2・2 標準定量操作

試料の適量 (硝酸性窒素として 200 µg までを含む水試料。またこの量を s ml とする) を分解瓶に採り, 純水で 50 ml とした。その後水酸化ナトリウム-ペルオキシ二硫酸カリウム溶液 10 ml を正確に加え密栓した後, 混合した。これを高圧蒸気滅菌器に入れて加熱し, 約 121℃ に達してから 30 分間加熱分解して放冷した。放冷させた試料から 10 ml を試験管に分取した。また, 検量線として試験管に 10 mg/l の硝酸性窒素標準溶液 1, 2, 3, 4, 5 ml を採り, 純水で 10 ml に調製した。その後, 操作は先に報告した方法⁹⁾と同様である。試料水 10 ml を含む試験管に 23% 塩化ナトリウム溶液 0.5 ml, 1% (m/V) フェノール溶液 0.5 ml, 更に硫酸 (4 + 1) 溶液 10 ml を加え, 試験管ミキサーでかくはんし, 混合した。各溶液を混合した後, 約 40 分間放冷して, 380 nm における吸光度を測定した。この方法で定量した濃度を a mg/l とすると, 試料の濃度 C (mg/l) として次式が成り立つ。

$$C (\text{mg/l}) = a \times (6/5) \times (50/s)$$

s は, 河川水, 海水では 50 ml である。下水では 2, 3 及び 5 ml である。

なお紫外線吸光光度法では, すべての窒素化合物を, アルカリ性ペルオキシ二硫酸カリウムを用いて高圧蒸気滅菌器中で酸化分解して硝酸イオンとした後, この溶液の pH を 2～3 に調整し, 硝酸イオンの吸収に対応する紫外波長 220 nm における吸光度を測定して全窒素濃度を求める。一方, 熱分解法では, 試料中の窒素酸化物を全窒素分析装置で熱分解して, 二酸化窒素を生成させ定量する方法であるが, 機器が高価であることが難点である。下水試料においては, アルカリ性ペルオキシ二硫酸カリウムを用いて, 高圧蒸気滅菌器中で酸化分解して硝酸イオンとした後, 全窒素分析装置を用いて測定した。また, 海水においては, 全窒素分析装置は再現性が低く応用不可能だった。

3 結果及び考察

3・1 水酸化ナトリウム-ペルオキシ二硫酸カリウム溶液の発色に及ぼす影響

硝酸性窒素溶液 50 ml を分解瓶に入れて, アルカリ性ペルオキシ二硫酸カリウム 10 ml を加えて高圧蒸気滅菌器中で酸化分解して, その分解瓶の中から 10 ml を試験管に採り, 23% 塩化ナトリウム溶液 0.5 ml, 1% (m/V) フェノール溶液 0.5 ml, 更に硫酸 (4 + 1) 溶液 10 ml を加え, 試験管ミキサーでかくはんし, 混合して, pH を測定してみると, 水酸化ナトリウム-ペルオキシ二硫酸カリウム溶液添加の分解瓶の中の溶液では 13 ぐらいだったが, 試験管に採り最後に硫酸 (4 + 1) を 10 ml 加えると 0.01 以下になった。この段階で, 硝酸イオンは反応して, 黄色に発色した。そこで, 全窒素の定量に応用できるのが期待されて, 2 µg/ml の硝酸性窒素溶液, 50 ml で上記の分解操作を行った後, 分解液中より 10 ml を試験管に分取して, 分解を行っていない 2 µg/ml の硝酸性窒素溶液 10 ml を発色させて, 380 nm の波長吸収を比較して回収率を求めたところ 101.7% だった。したがって, 分解に用いる水酸化ナトリウム-ペルオキシ二硫酸カリウム溶液は, 後に続く硝酸イオン定量のための塩化物存在下のフェノールのオキシム形成反応に影響を与えなかった。そのため, 検量線の作成では, 硝酸性窒素溶液のアルカリ性ペルオキシ二硫酸カリウムを用いての高圧分解を行わなくてもよいことが分かり, 2・2 の標準定量操作の式で, 6/5 といった係数が必要になった。

3・2 下水試料における本法と他法の比較

試料は 2000 年 1 月, 2 月に熊本市東部浄化センターで採水した。下水成分は, 時間帯によって大きく変動するが, ここでは深夜も含め, 無作為に 44 検体を採水した。同センターに流入する下水の 2 ml を, 同センター内の処理中

の下水の 3 ml を、またセンターから放流される下水の 5 ml を純水で 50 ml とした後、アルカリ性ペルオキシ二硫酸カリウム溶液 10 ml を用いて高压蒸気滅菌器で硝酸イオンに酸化分解した。試料の一部は、220 nm の検出を用いる紫外線吸光光度法で測定した値を 240 nm における吸収で補正⁵⁾した。しかし、値はあまり変わらず、同センターに流入するか、放流される検水には、鉄(III)イオン、クロムやマンガンは、ほとんど混入していないと考えられる。ちなみに、1998 年 6 月では鉄イオンは 0.29 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、クロムイオンは 0.02 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、マンガンイオンは 0.19 $\mu\text{g}/\text{ml}$ といった値で下水の放流水に入っていた。下水の全窒素を測定した結果を Fig. 1 に示す。約 10~80 mg/l であり、紫外線吸光光度法 (JIS 法) と本法は良好な相関性を示した。

Fig. 1 Correlation of analytical date between the proposed and JIS methods for sewage water samples

Number of samples: 44; Correlation coefficient: 0.968; Regression: $Y = 0.929X + 0.889$

を示した。また、比較の意味で、2000 年 12 月に採水した 9 検体について、本法と紫外線吸光光度法及び熱分解法²⁾⁴⁾による測定値を Table 1 に示した。当下水道終末処理施設には、Scheme に示すように二つの処理系列があり、24 時間稼働している。当下水道終末処理施設への流入水が A と E で、施設内での処理中の水が B, C と F, G, H で、放流水が D と I であり、この施設内の 2 系列の活性汚泥法¹⁰⁾による処理によって、全窒素の濃度が低下していくのが分かる。また、処理の段階で存在する硫化物は、ほとんど活性汚泥に吸着されてしまい、処理水には混入してこない。そのため、本法で問題となる硫化物の影響¹¹⁾はなく、Table 1 に示すように、本法の結果は紫外線吸光光度法と良い相関性を示した。熱分解法 (T-N 法) との相関性も二、三の試料を除けば、良好であった。但し、この差異の原因については現時点では不明である。また、紫外線吸光光度法とは異なり、視覚的に判定可能な面を有するといった利点もあり、分解瓶のスクリーキャップとパッキングとの間の水道水による洗浄に際して、硝酸イオンによる汚染に対する視覚的チェックが容易であり、通常の試験の空試験値の高低にとまどう恐れもない。

窒素含有量の許容限度は、特定施設から公共用水域に排出される排水では 120 mg/l (日間平均 60 mg/l) であるので、当下水道終末処理施設は水質汚濁防止法を遵守していると言える。

3.3 河川水における本法と他法との比較

1999 年 12 月と 2000 年 2 月に熊本県内の 37 河川で採水した。この場合、試料水は希釈せず、直接 50 ml を分解瓶に入れて、アルカリ性ペルオキシ二硫酸カリウム分解処理を行った。まず、すべての試料について、得られた分解液の 10 ml を用いて本法により、30 ml を用いて紫外線吸光光度法により窒素含有量を測定した。Fig. 2 に両者の測定値を比較して示したが、全窒素濃度は約 0.5~5.0 mg/l の

Table 1 Analytical date of T-N in sewage waters determined by the proposed method, ultraviolet spectrophotometry, and T-N analyser

Samples	T-N/mgN l ⁻¹		
	Proposed method ¹⁾	Ultraviolet spectrophotometry ²⁾	T-N analyser ³⁾
A	38.6	46.4	51.9
B	52.6	54.5	48.9
C	30.3	32.7	27.8
D	10.4	10.4	4.8
E	58.9	56.5	54.0
F	46.4	45.5	30.6
G	38.4	33.8	28.0
H	37.7	33.8	24.4
I	27.3	26.2	23.6

1) Refer to ref. 9. 2) Refer to ref. 4. 3) Refer to ref. 2. 1), 2), 3) $n = 1$

Scheme Sampling points (A~I) on activated sludge process of sewage waters in Kumamotoshi Eastern Purification Center

Fig. 2 Correlation of analytical data between the proposed and JIS methods for river water samples

Number of samples: 37; Correlation coefficient: 0.915;
Regression: $Y = 0.923X + 0.325$

範囲に分布し、ほぼ良好な相関性が認められた。しかし相関係数に関しては、下水の場合の 0.968 (Fig. 1 参照) と比較して 0.915 とやや低い値となった。下水の場合には希釈しているが、河川水の場合には希釈を行っていないので、共存成分が正又は負の干渉を示したものと推測している。

次に、一部の試料について上記 2 法に加え、残りの分解液を熱分解法により測定した。Table 2 に本法、紫外線吸光光度法 (未補正及び補正值)、及び熱分解法による測定値を示した。試料 C 以外の 3 件では、本法に比べ他法の測定値が若干高い傾向を示した。本法では硫化物、鉄などの干渉¹¹⁾を受けるためと思われる。

3.4 海水における本法の全窒素測定への応用

2000 年 3 月熊本県八代市八代港、熊本県宇土郡不知火町不知火海岸の 2 箇所で、2000 年 5 月熊本県宇土郡三角町三角港、熊本市沖新町熊本港の 2 箇所で海水を採取した。後者の試料の場合、検量線法で測定を試みた。すなわち、試料水は希釈を行わず、50 ml を分解瓶に入れて、アルカリ性ペルオキソ二硫酸カリウム分解処理を行った。この場合、水酸化物の沈殿を生じるので分解瓶中から採取し、注意深く、その上澄み 10 ml を試験管に採り出して、検水とした。海水の平均的な塩化ナトリウム濃度は 3.0% (塩化物イオン濃度は 18.980 g/kg) である¹²⁾が、実際に酸化分解前後における塩化物イオン濃度をモル法¹³⁾で測定したところ、分解前は 18.56 g/l で、分解後は 15.11 g/l であった。著者が前回、海水の硝酸性窒素を定量した方法⁹⁾を再度採用して、検量線作成用の標準溶液 (1, 2, 3 mg/l) 10 ml には、23% 塩化ナトリウム溶液を 1.0 ml 添加して、酸化分解後の上澄み溶液 10 ml には純水を 1.0 ml 添加し、塩化ナトリウム濃度をそろえた。そして、混合後

Table 2 Analytical date of T-N in river waters determined by the proposed method, ultraviolet spectrophotometry, and T-N analyser

Samples	T-N/mgN l ⁻¹			
	Proposed method ¹⁾	Ultraviolet spectrophotometry ²⁾		T-N analyser ³⁾
Shôkeibori Moat	2.5	3.0	3.0 ⁴⁾	3.0
Akithugawa River	2.7	2.9	2.8 ⁴⁾	2.9
Shirakawa River	1.4	1.4	1.3 ⁴⁾	1.4
Ezuko Lake	3.3	3.8	3.7 ⁴⁾	4.0

1) Refer to ref. 9. 2) Refer to ref. 4. 3) Refer to ref. 2. 4) Modified value at 240 nm, Refer to ref. 5. 1), 2), 3) n = 1

Table 3 Analytical date of T-N (mgN l⁻¹) in seawater sample

Sample	NO ₃ -N Added/ mgN l ⁻¹	T-N Found/ mgN l ⁻¹	Recovery, %
Misumi port ¹⁾	0	0.31	—
	0.99	1.09	78.7
	1.96	1.76	73.9
Kumamoto port ¹⁾	0	0.44	—
	0.99	1.10	66.6
	1.96	1.96	77.5

1) n = 2

40 分経過後、迅速に（10 分以内に）測定を行った。Table 3 にその結果を示す。本法では臭化物イオンの影響が少なく¹¹⁾、100% 近い回収率を期待したが、予想に反して低い回収率となった。海水では河川水以上に妨害物質が多く、それらの干渉作用が影響したためだと考えられる。そこで、前者の試料の場合、標準添加法¹⁴⁾を試みて、公定法である銅・カドミウムカラム還元法と比較してみた。銅・カドミウムカラム還元法は民間に委託して行った。

標準添加法では二つの試料、すなわち、八代港、不知火海岸の海水において、50 ml ずつを分解瓶それぞれ 5 個に入れて、それぞれに硝酸性窒素標準液と純水で、硝酸性窒素濃度を 0, 0.4, 0.8, 1.2, 1.6 mg/l の最終濃度で添加して、全量 51 ml とした。そして酸化分解を試みた。その後、各々の分解瓶の中から、10 ml を試験管に採り出して、この海水の塩化物存在下のフェノールのオキシム形成反応を利用して発色させ、380 nm の吸収強度（Y 軸）と最終濃度（X 軸）の関係をグラフ用紙の上で直線として、X 軸と交差する値を求めて定量を試みた。銅・カドミウムカラム還元法では八代港、不知火海岸の海水では 0.24, 0.46 mg/l であり、著者が提出した方法では 0.20, 0.23 mg/l であり、低濃度も含めて海水（0.2～0.6 mg/l）への全窒素測定には、あまり良い結果が得られなかった。

しかし、この方法は水質汚濁防止法の排水基準に大きな責務を持たなければならない、下水道水質検査並びに管理に携わる行政¹⁵⁾の全窒素の定量並びに、環境行政・環境コ

ンサルタントがかかわる全窒素及び窒素含有量の定量に対する定常分析法として簡易であり、有用であると考えられる。河川では全窒素濃度は約 0.5～5.0 mg/l の範囲に分布し、相関係数 0.915 なのに対して、下水の全窒素含量は、約 10～80 mg/l の値をとり、相関係数 0.968 を示したことから、特にこの方法は高濃度に対し、すなわち希釈操作を伴う下水又は尿浄化槽の二次処理水の全窒素の測定に応用すると、本法の発色に付随するいろいろな妨害物質（硫化物、ヨウ素、鉄など）の干渉¹¹⁾も抑えられ、精度的に優れているということを強調して終えたい。

論文の最後にあたり、ご討論していただいた熊本大学工学部物質生命化学科の城 昭典教授、研究にご協力いただいた東部浄化センターの中村孝浩、杉野一洋両氏に感謝いたします。

文 献

- 1) 昭和 45 年政令 138 号 (1970).
- 2) JIS K 0102, 工場排水試験方法 (1993).
- 3) 並木 博, 上田浩太郎, 長島珍男, 釜谷美則: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **46**, 271 (1997).
- 4) 日本下水道協会編: “下水試験方法上巻 1997 年版”, p. 182 (1997).
- 5) 石谷 寿, 大川和伸, 久下芳生, 中本雅雄: 水質汚濁研究, **6** (1), 51 (1983).
- 6) 北村秀樹, 永井寛治, 松下千明, 山田康正: 水処理技術, **26**, 19 (1985).
- 7) 高田文子, 加藤 久, 服部 廉, 森谷 昭, 水野勝: 水処理技術, **40**, 7 (1999).
- 8) 北村秀樹, 石谷 寿, 久下芳生, 中本雅雄: 水質汚濁研究, **5** (1), 35 (1982).
- 9) 郷 康弘: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **49**, 261 (2000).
- 10) 通商産業省立地公害局監修: “5 訂公害防止の技術と法規, 水質編”, p. 191 (1995), (丸善).
- 11) N. Velghe, A. Claeys: *Analyst* (London), **106**, 1018 (1983).
- 12) 小山忠四郎: “湖水・海水の分析”, p. 230 (1972), (講談社).
- 13) 日本分析化学会北海道支部編: “水の分析”, 第 4 版, p. 151 (1994), (化学同人).
- 14) 日本環境測定分析協会編: “環境計量士への近道 (下) 第 2 版” p. 63 (1994), (丸善).
- 15) 藤井秀夫, 松崎茂樹: “下水道管理—6 維持管理と水質管理”, p. 379 (1979), (鹿島出版会).

要 旨

下水、海水の全窒素測定並びに河川水の窒素含有量測定に、前回、改良・開発したフェノールを用いる可視吸光光度法による亜硝酸性及び硝酸性窒素の定量方法を、アルカリ性ペルオキシ二硫酸カリウム分解後の水試料中の硝酸イオン定量法として導入した。各種試料に応用したところ、従来の方法、特に紫外線吸光光度法と比較して、次のような有用な面も有している。下水の全窒素測定には、220 nm を測定する簡易な紫外線吸光光度法が普及している。しかし、下水の維持管理には、視覚的に判定可能な面も重要であり、この可視吸光光度測定法は、可視部領域近くの 380 nm における吸光度を測定するため、下水の維持管理に意義深いと考える。海水の全窒素測定を紫外線吸光光度法で行うと、海水中の臭素イオンの紫外部における吸収が妨害する。そこで海水の全窒素測定にもこの測定法を改良し、応用してみた。また、工場排水は処理・希釈されて河川に放流されるが、その河川水にも応用した。定量範囲、検出下限は紫外線吸光光度法と同程度であった。