- 5) D. D. Tunnicliff, et al: *Anal. Chem.*, **18**, 710(1946).
 6) 三井哲夫: 分化., **2**, 3(1953).
 7) 三井哲夫: 京大食糧科研報告, **11**, 26(1953).
 8) 穂積啓一郎, 今枝一男, 田中原子: 薬誌., **72**, 658, 663, 1410(1952).
 9) 河野哲郎, 下河辺節子, 中山道子, 緒方美津子: 分化., **2**, 459(1953).
 10) 同上: 同誌., **2**, 137(1953).
 11) 河野哲郎, 山本節子, 中山道子: 同誌., **1**, 126(1952).
 12) F. O. Fischer: *Anal. Chem.*, **21**, 827(1949).

(東北大学工学部応用化学科*・宮城県衛生研究所) (昭和28年9月24日受理)

硝酸の比色定量法(第1報)

(1) 濃硫酸溶液法の比較試験 (2) クロモトロフ酸による比色定量法

加藤多喜雄・沖 中 裕・堺 敬 一

Colorimetric Determination of Nitrates. I.

1. Critical Study of the Methods Using Concentrated Sulfuric Acid

2. A Method Using Chromotropic Acid

TAKIO KATO, YUTAKA OKINAKA, and KEIICHI SAKAI

(Department of Applied Chemistry, Faculty of Engineering, Tohoku University, and The Hygienic Research Institute, Miyagi Prefecture)

Coloration reactions of nitrate with many organic reagents in concentrated sulfuric acid solution are investigated, among which new methods using chromotropic acid, Direct Rhoduline Red RH, and Chrome Blue Black R are described. The result of further investigation of chromotropic acid method indicated that the quantitative estimation of NO_3^- amounting above $1\gamma/\text{cc}$ is possible by using 20 cc total sample containing sulfuric acid and water at the ratio of 3:1 by volume, but the solution does not follow Beer's law above the concentration of $10\gamma/\text{cc}$. The presence of NO_2^- up to $3\gamma/\text{cc}$ does not interfere the reaction, above which it is necessary to decompose it. (Received September 24, 1953).

水質分析に於ける硝酸塩の比色定量法を決定することを目的として、先ず濃硫酸溶液中での多くの着色反応について半定量的に検討を加え、その中で比較的良好な着色反応と見做されるクロモトロフ酸を使用する方法についてやや詳しく比色条件の検討を行った。

1 濃硫酸溶液法の比較試験

約70種類の有機試薬につき、先ず着色反応の鋭敏度について半定量的な実験を行った。即ち硝酸塩(KNO_3)の基準溶液0.1~1.0ccを入れた試験管に濃硫酸10ccを加えて混合冷却し、これに各試薬0.1~0.01%の濃硫酸溶液1ccを添加して発色状況を見た。その結果 NO_3^- として10 γ/cc (Nとして約2.3 γ/cc)以下でも明らかに発色の認められるもののみを第1表にまとめた。この際亜硝酸の存在をも考慮してその反応もを行った。

第1表に示したもののうち NO_3^- の存在の下で NO_2^- のみを発色させるものが二三あるが、これ等は何れも変色が不明瞭であったり、又感度が多少劣っているので、水質分析に於ける比色法としては好ましくないものばかりである。又濃硫酸を加える時の発熱のために NO_3^- の一部は NO_2^- に酸化されるであろうから NO_2^- との反応についてはあまり確実なことはいえない。これ等の予備的な実験に次いでこの中から良好と認められるもの数種を選び、更に文献に見られるものをも加えて次の8種類の方法について比較試験を行い各方法の長短を比較した。

(1) Phenoldisulfonic Acid法¹⁾ フェノール 25gに濃硫酸 150cc 及び SO_3 13% 含有の発煙硫酸75ccを加えて湯浴上に2時間加熱したものを試薬とする。試料を蒸

* 仙台市桜小路

第 1 表

No.	試 薬	NO_3^- 10 γ 1 γ	NO_2^- 10 γ	変 色 状 況
1	<i>p</i> -Aminophenol	+	±	b→rp
2	Hydroquinon	+	-	cl→y
3	Catechol	+	-	(+) cl→y
4	Resorcinol	+	-	(+) fy→y
5	Pyrogallol	++	+	cl→r
6	Phloroglucinol	+	-	fy→y
7	Gallic Acid	+	-	br→y
8	<i>m</i> -Cresol	+	-	fy→y
9	Chromotropic Acid	++	+	cl→y
10	2,6-Dichlorophenol-indophenol	++	+	v→o
11	α -Naphthol-Benzoin	+	±	G→r
12	β -Naphthol	++	+	y→br
13	Brucine	++	+	cl→r→y
14	Thymol-indophenol	+	-	b→pk
15	Acid Brilliant Scarlet	++	+	p→pk→y
16	Direct Sky Blue 5B	+	-	sb→b
17	Direct Rhoduline Red RH	++	+	ro→b
18	Chrome Blue Black R	++	+	sb→y→cl

備考: ++ 著しい着色, + 明らかに着色, (+) 僅かに着色, ± 殆んど着色せず, - 着色せず, b青, r赤, p紫, cl無色, y黄, fyうす黄, br褐色, c橙色, G緑, pk桃色, sb水色

発乾涸してからこの試薬2ccを加え10分後に15ccの水を加え、1:2アンモニア水で弱アルカリ性とし50ccに稀釈して比色する。

(2) Brucine法²⁾ 試料10ccにブルシンの5%クロロフォルム溶液0.2ccを加え更に濃硫酸20ccを添加し黄色に変色後冷却比色する。

(3) Pyrogallolsulfonic Acid法³⁾ ピロガロール5gに濃硫酸10ccを加え80~90°Cに2~3分加熱し、冷却後

水を加えて200ccにしたものを試薬とする。試料10ccにこの試薬0.5ccを加え更に濃硫酸20ccを加えて生成するピンク乃至赤褐色を比色する。

(4) **Pyrogallol 法** ピロガロール1%の濃硫酸溶液を試薬とし、試料1ccにこの試薬0.5cc及び濃硫酸10ccを添加する。

(5) **Chromotropic Acid 法**⁴⁾ 試料5ccに濃硫酸5ccを加えこれにクロモトロープ酸ナトリウム水溶液数滴を加える。

(6) **Chromotropic Acid 法** クロモトロープ酸0.1gを濃硫酸20ccに溶解したものを試薬とする。試料1ccに濃硫酸10cc及び本試薬0.5ccを添加する。

(7) **Direct Rhoduline Red RH** この粉末0.01gを濃硫酸10ccに溶解し、その1ccに濃硫酸を加えて50ccとしたものを試薬とする。試料1ccに濃硫酸10cc及びこの試薬0.5ccを添加する。

(8) **Chrome Blue Black R** この粉末約1mgを濃硫酸50ccに溶解したものを試薬とし、(7)と全く同様に扱う。

以上8種類の方法につき NO_3^- の検出限界及び NO_3^- と Fe^{+3} の存在許容限界を求める実験を行った。その結果を第2表に示す。

第 2 表

No.	NO_3^- 検出 限界 γ/cc	NO_3^- 許容 限界 γ/cc	Fe^{+3} 許容 限界 γ/cc	備 考
(1)	2	-	>100	蒸発乾涸しない時は検出感度が悪くなる。 NO_3^- の検出限界は蒸発乾涸後、即ち全試料中2γの意味。
(2)	0.1	<1	10	古くから使われている良法である。0.1~1γ NO_3^- /ccの間はあまりはっきりしないが、0.1, 0.5, 1γ/ccの区別はつく。定量には1γ/cc以上が適する。近くはC. A. Nollの詳細な報告がある ⁵⁾ 。
(3)	0.15	0.2	2.5	鋭敏であるが多少再現性に欠けている。発色条件の詳細な検討を行えば有望と考えられる。
(4)	1	1	<10	(3)よりも感度は劣るが変色は極めて明瞭である。
(5)	90	-	-	文献値である。硫酸がうすいので反応進行に不適当である。
(6)	0.5	3	>100	NO_3^- は時間経過と共に黄色に着色する。変色は極めて安定で再現性良好である。
(7)	1.5	<10	>100	変色は見易く、鉄の妨害もなく良好であるが、硫酸がうすくなると NO_3^- がなくても変色する。条件の検討を経れば有望である。
(8)	1	1	50	硫酸と水の容積比が3:1位迄は硫酸がうすくなっても差支えない。特別の長所はない。

第2表に比較した方法は夫々に利点を有しており、何れも定量化されているか又はその可能性のあるものであるが、この中で、クロモトロープ酸による方法は特に有望と考えられたのでこれを比色定量に使用する条件につき種々検討を加えた。その結果を次章に示す。

2 クロモトロープ酸による比色定量法

古くS. Vagiはクロモトロープ酸、H酸その他多くのナフトールスルホン酸と硝酸との発色反応について検討しているが、何れも感度が悪く通常の目的には不適当である。

装 置：研究室にて自製の濾光板光電光度計⁶⁾。青色のフィルター、30mmのセルを使用した。

試 薬：(1) クロモトロープ酸の濃硫酸溶液：特級遊離のクロモトロープ酸又はそのナトリウム塩0.1gを硝酸をふくまない特級濃硫酸20ccに溶解したもの。

(2) 特級濃硫酸：硝酸をふくまないことを空試験で確認しておくことが必要である。

分析操作：試料水溶液5ccに注意して沸騰することのないように濃硫酸14ccを加えて水で冷却する。この際充分振盪して気泡を出してしまふ。次にクロモトロープ酸試薬1ccを添加して混合後気泡の完全になくなるのを待って、生成した黄色を硝酸塩基準溶液を同様に操作せるものと比色するか、又は光電光度計で透過率を測定する。

(1) 硫酸の濃度の影響

第1図の曲線は水と硫酸との容積比を種々に変えて水に対する透過率を測定した結果である(下の目盛)。但し

第1図 硫酸の濃度と透過率の
関係及び時間経過による透過
率の変化

NO_3^- は全容積中に100γを含む。水5ccと硫酸15cc、即ち $\text{H}_2\text{O}/\text{H}_2\text{SO}_4 = 1/3$ 以上になると急激に発色程度が悪くなり、又それ以下では大きな影響がない。従ってなるべく低濃度の NO_3^- の検出定量

を行うためには上

記の比が1/3を超えない程度で試料水溶液を出来るだけ多くとることが有利である。その意味に於て試料水溶液5cc、濃硫酸15ccの条件を採用した。曲線IIはこの条件に於ける発色溶液の時間経過による透過率の変化を表わす。1時間迄測定したが極めて安定である(上の目盛)。曲線IIIは試料水溶液7ccを用い、硫酸13ccで発色させた場合であり、硫酸の濃度がうすいためにニトロ化の反応が不完全で容易には着色が安定しない。

(2) クロモトロープ酸添加量の影響

NO_3^- -20γ/cc 水溶液の場合につき試薬の添加量の影響を測定した。試薬溶液そのものが多少褐色に着色してい

クロモトロープ酸 試薬添加量	吸光度
0.1cc	0.098
0.5	0.145
1.0	0.146
3.0	0.145
5.9	0.146

るので量が多くなると透過率に影響するから、何れも空実験値を差引いて吸光度として示した。但し何れも全液量は20ccである。実験結果を第3表に示す。クロモトロープ

酸溶液添加量 0.5cc 以上 5cc 迄一定であるが、多くなると試薬の着色による吸収が大きくなるので 1cc 位が適当である。又試薬溶液は時間が経つと徐々に黒ずんで来るので新しい方がよい。

(3) Beer の法則への適合性

第 2 図に示す如くこの呈色反応は Beer の法則には従わない。近似的に 0~10 γ /cc の間で従うと見做せるのみである。第 2 図の直線 I は目盛が右側と上側である。従

第 2 図 Beer の法則への適合性

度計を使用すれば、1 γ NO₃/cc である。

(4) 亜硝酸との反応

硫酸を添加する時の発熱による亜硝酸の酸化を防ぐために十分に注意して硫酸を添加した。これにクロモトロフ酸試薬を加えると、添加当初は相当量亜硝酸が存在していても殆んど発色しないが、又は極めて僅かに黄色に着色するのみであるが時間の経過と共に徐々に黄色に着色して来る。この現象は試薬と亜硝酸との直接反応によるものか又は徐々に亜硝酸が硝酸に酸化されるために

第 3 図 亜硝酸の時間経過による着色状況 (数字は水溶液 1 cc 中の NO₂ の γ 数を示す)

は NO₂-3 γ /cc 以下ならば共存は別に発色に影響しない。但し更に長時間放置すれば徐々に着色して来るから 30 分位の内に定量を完了させなければならない。NO₂- が 3 γ /cc 以上の濃度の時は直接硝酸のみを定量するためには亜硝酸を分解しなければならない。

次に諸種の分解法のクロモトロフ酸法への適用の可否に就いての実験結果について記述する。

(5) 亜硝酸の分解

亜硝酸の分解剤として通常使用されているものは、尿素、スルファミン酸、窒化ナトリウム等であり、中でも後二者は極めてよい結果を与えると云われている。筆者等はこの三種の分解剤の亜硝酸分解能力及び後の発色操作に及ぼす影響について実験した。

1) 尿素による分解 試料水溶液 5cc に尿素的飽和水溶液 0.1cc を加え、これに濃硫酸 1cc を添加して加熱又はそのまま放置して後更に濃硫酸 13cc を添加して冷却し、これにクロモトロフ酸試薬 1cc を添加した。結果を第 4 表に示す。これ等の条件では完全に満足出来る分解は行われなかった。而して尿素的の過剰は硝酸の発色を僅かに妨害する。然し NO₂-30 γ /cc 以下ならばこの標準溶液の方にも同様に尿素を加えて操作すれば、亜硝酸を分解して比色することは可能である。

第 4 表

NO ₂ - γ /cc	NO ₃ - γ /cc	透過率(%) vs. H ₂ O	分 解 条 件
0	0	91.7	
100	0	89.7	室温に10分放置
500	0	80.2	室温に10分放置
200	0	88.2	湯浴中で3分加熱
200	0	87.8	10分 "
50	20	77.0	室温に10分放置
30	20	73.9	"
10	20	73.8	"
5	20	74.1	"
0	20	73.9	"
0	20	66.8	尿素を加えてない

2) 窒化ナトリウムによる分解

従来窒化ナトリウムは亜硝酸の分解剤として非常によい結果を与えるといわれているが、これを本法に適用する時は窒化ナトリウムの過剰が著しく後の発色の妨害となるから、これを完全に分解除去することが必要である。そのためには単に加熱しただけでは不十分であり、煮沸濃縮しなければならない。しかも亜硝酸の分解能力は第 5 表の実験結果の示す如く、差程満足出来るものではないことが分った。

第 5 表

NO ₂ -* γ /cc	クロモトロフ酸・添加後の時間	透過率(%) vs. H ₂ O
0	10<(分)	91.7
2.5	10	87.8
	23	87.1
	30	86.8
5.0	12.5	87.0
	20	86.8
	60	85.6

(* 濃縮前の値)

実験は試料水溶液 50cc をビーカーにとりこれに NaNO₂ の 4% 水溶液 0.5cc 及び 0.6N の醋酸 1cc を添加してこれを電熱器上で 10cc 迄濃縮しその 5cc をとって常法によってクロモトロフ酸で発色操作を行った。

第 5 表の結果が示す如く全く硝酸をふくまないのに僅かに黄色に着色し、これが徐々に濃くなる傾向がある。この現象は明らかに分解不充分的亜硝酸によるものであり分解過程に於て生じた硝酸によるものでないことはたしかである。この点を更に確認するために、亜硝酸の濃度を 5 γ /cc とし、これについて同様に分解操作を行い、残留しているかも知れない亜硝酸を所謂 Griess-Romijn の試薬によって定量した結果、第 1 回目は 0.064 γ /cc、第 2 回目は 0.2 γ /cc、第 3 回目は 0.02 γ /cc と極めて不規則に微量の亜硝酸が残留することを認めた。亜硝酸の存在量が更に少い時にはもっとよい結果が得られるかも知れないが、煮沸濃縮せずに単に 20 分程沸騰せる湯浴中で加熱するだけでは、亜硝酸の分解状況が非常に悪いことから考えても、あまり良い方法とは考えられない。

(3) スルファミン酸による分解

第6表No. 1~3に見る如く、スルファミン酸の過剰の存在はやはり硝酸とクロモトロブ酸との反応に多少の妨害作用を行う。従ってスルファミン酸の過剰を分解することが望ましいのであるが、満足な分解方法を見出すことが出来なかった。従ってなるべくスルファミン酸添加量を少量にとどめておいて亜硝酸の分解出来る限度を求めた結果、スルファミン酸の0.1%水溶液0.5ccを使用して NO_3^- を少くとも30 γ /cc迄は充分に分解出来ることを認めた。

第 6 表

No.	NO_3^- γ /cc	NO_3^- γ /cc	$\text{NH}_2\text{SO}_3\text{H}$ 0.1%cc	透過率 (%) vs. H_2O
1	0	20	0	66.8
2	0	20	1	72.9
3	0	20	5	81.0
4	30	20	0.5	68.0
5	10	20	0.5	68.0
6	5	20	0.5	67.8
7	0	20	0.5	67.8

この場合スルファミン酸を加えたために起る減色は透過率にして約2%である。但しこの場合の分解条件は、試料水溶液 5cc

に0.1%スルファミン酸水溶液0.5ccを添加後約3分間沸騰せる湯浴中に浸すのみで充分である。又勿論実際の比色操作に於ては、基準溶液の方にもスルファミン酸を添加しておくことが必要である。

亜硝酸の他、 $\text{Fe}^{+2}200\gamma$ /ccでも全く妨害しない。但し1000 γ /ccになると約5%の減色が見られた。又多量のハロゲンは発色を阻害する。

6. 総 括

(1) 多くの硫酸溶液中に於ける発色反応を比較検討し、硝酸と鋭敏に着色乃至変色する試薬として、クロモトロブ酸、Direct Rhoduline Red RH, Chrome Blue Black R について新しく記述した。

(2) クロモトロブ酸による方法に検討を加えた結果、硫酸と水の容積比3:1で NO_3^- として1 γ /cc以上が定量可能であることを認めた。但し10 γ /cc以上はBeerの法則に従わない。 NO_3^- は3 γ /cc迄は共存しても差支えないが、それ以上の時は分解する必要がある。

(3) 亜硝酸の分解法としては完全に満足出来る方法が見出されなかったが、 $\text{NO}_2^-30\gamma$ /cc以下ならば感度を多少犠牲にしてスルファミン酸又は尿素が使用出来るが前者の方が良い。窒化ナトリウムの使用は不適當である。

文 献

- 1) F. D. Snell and C. T. Snell : *Colorimetric Methods of Analysis*, Vol. I, p. 629(1936).
- 2) *ibid.*, p. 635.
- 3) Luigi Umberto de Nardo : *Compt. rend.*, **183**, 563(1929).
- 4) S. Vagi : *Z. Anal. Chem.*, **66**, 14(1925).
- 5) C. A. Noll : *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, **17**, 426(1945).
- 6) T. Kato and Y. Arikawa : *Tech. Rep. of the Tohoku Univ.*, Vol. XVII. No. 2, 68(1953).

(東北大学工学部応用化学科 *・宮城県衛生研究所) (昭和28年9月24日受理)

硝 酸 の 比 色 定 量 法 (第2報)

3. アニリンを利用する新比色定量法

加 藤 多 喜 雄・沖 中 裕・堺 敬 一

Colorimetric Determination of Nitrates. II.

3. A New Method Using Aniline

TAKIO KATO, YUTAKA OKINAKA and KEIJIH SAKAI

(Department of Applied Chemistry, Faculty of Engineering, Tohoku University, and The Hygienic Research Institute, Miyagi Prefecture)

Nitrate is reduced to nitrite by use of zinc dust and this is used for diazotation of aniline. The diazonium salt is coupled with 1-naphthylamine for development of red coloration which is utilized for colorimetric estimation of nitrate. The characteristic of this method is that the nitrite present in sample solution can easily be decomposed; i. e., nitrite, in the presence of aniline, decomposes completely by a slight heating and remain no substance which interferes the reaction, up to 0.45 γ N/cc of nitrite can be decomposed by this way. Also, the method has a merit of having no interference by the presence of iron and sodium chloride, but S^{2-} , SO_3^{2-} and Cu^{++} interfere the reaction. Adjusting of the solution to pH 5~6 for reduction of nitrate to nitrite by zinc dust is desirable; the shape of vessel, kinds of zinc dust to be used for reduction and the temperature have the effect on the result of estimation. In this method, using of NO_3^- of 0.02~2 γ /cc or 0.005~0.45 γ N/cc is recommended to follow the Beer's law.

(Received September 24, 1953).

水中の硝酸塩の定量法で従来提唱されている方法には、第1報に於て記述したような濃硫酸を使用する方法の他に硝酸を還元して亜硝酸となし、これを亜硝酸に特有の発色反応によって呈色させて比色する方法がある。前者に属する方法では濃硫酸の極めて純粋なものを多量に必

* 仙台市桜小路

要とし、且つ感度も後者程によりいものは見当らない。一方後者即ち亜硝酸の発色反応に帰する代表的な方法としては還元剤として粉末亜鉛を使用し、発色剤としてスルファミン酸及び α -ナフチルアミンを使用する方法がある^{1)~3)}。中でも松居氏の方法はよい結果を与えるが、亜硝酸の共存する場合に直接に硝酸のみを定量するために