

水中の全窒素の測定法について

Determination of total nitrogen in water

早 川 亮 太* 檜 村 弘 子*

Ryota Hayakawa and Hiroko Kashimura

全窒素測定の意義

湖沼の急速な汚濁化、あるいは沿岸海域の赤潮など、一連のいわゆる富栄養化現象の発生機構に関しては、いまなお不明の点が多いが、水中に窒素およびリンがあるレベル以上に存在する場合、少なくともそれらが、いわば富栄養化の引金としての役割を果たしている事実は否めないところであって、いわゆる3次処理においては、この窒素もしくはリンの有効な除去方法を見出すことが、当面の重要課題となっていることはいうまでもない。

さてこのうち、脱窒処理についていえば、その対象は特定の形態の窒素のみに限定せず、窒素のトータル、すなわち全窒素を考慮する必要がある。その理由は、一般に空、陸、水を問わず、環境中の窒素化合物はその態様の変化がいちじるしいことと、水中や土壌中におけるこれらの変化は生物の代謝作用に主としてよるものであること、いいかえればどんな形の窒素であろうと、程度の差こそあれ富栄養化へ寄与する、という事実にもとづくものである。

従来、水質試験では全窒素（総窒素）の定義がややあいまいで、しばしば慣用的には「ケルダール全窒素（Kjeldahl total nitrogen）」を「全窒素」と見なしてきた。しかしこのものには、亜硝酸性窒素（ $\text{NO}_2^- - \text{N}$ ）および硝酸性窒素（ $\text{NO}_3^- - \text{N}$ ）は含まれないため、これらの合計量が事実上全窒素に対して無視できるほど少ない場合（一般に生活污水）はともかくとして、生物処理を受けた放流水のように両者が相当量含まれるケースにおいては、ケルダール全窒素の利用価値は高いとはいえない。もっとも $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ を別に定量して既知である場合には、これらをケルダール全窒素に加算してやれば、全窒素が求められるが、必ら

ずしもこれらを個々に求めるにはおよばず、ただそのトータル量だけから富栄養化への寄与の可能性（潜在的なものをも含めた）を評価したい、という必要性は、今後あらゆる種類の排水について高い頻度で生じてくることが予想されるが、これに応えるためには、実用的な全窒素の測定方法が確立されていなければならない。

今般、「下水試験方法」¹⁾改訂を機に、下水はじめ各種排水等を対象とする全窒素の測定法について実験的検討を行った結果、以下に記す方法により、簡易に、再現性よく測定できることがわかった。

測定法の原理

この方法は、検水にデバルダ合金を加え、水酸化ナトリウムでアルカリ性としたのち蒸留し（第1段）、検水中に含まれる $\text{NH}_3 - \text{N}$ 、 $\text{NO}_2^- - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ および有機性窒素の一部（すなわちアルカリ性で還元分解されるもの）の合計量に相当する窒素を、すべてアンモニアガスとして遊離させ、飽和ホウ酸溶液中に吸収させる。ついで残留液中の有機性窒素をケルダール分解したのち、ふたたびアルカリ性下で蒸留し（第2段）、留出したアンモニアを、さきと同一のホウ酸溶液中に吸収させる。この吸収液中の $\text{NH}_3 - \text{N}$ 濃度を、滴定法あるいは吸光度法によって求めることにより、もとの検水中の全窒素の濃度を定量しようとするものである。すなわちこの操作において生じる、各形態の窒素のアンモニアへの変換を図で示すと図1のようになる。

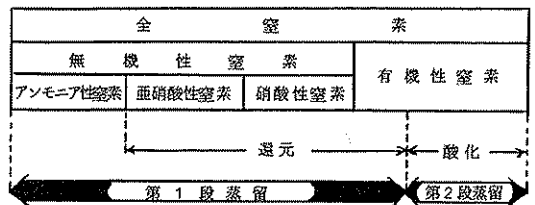


図1 測定法概念図（各形態の窒素のアンモニアへの変化）

* 日本環境衛生センター公害部水質課

Water Pollution Laboratory, Department of Environmental Pollution, Japan Environmental Sanitation Center

試験操作

1 試薬

デバルダ合金: 粉末の市販品を用いる。組成はCu 50 : Zn 5 : Al 45

水酸化ナトリウム溶液 (10N): 水酸化ナトリウム 400g に水を加えて1ℓとする。おうおうアンモニア性窒素を含むことがあるので、ピーカー内で5~10分間煮沸し、常温に戻ったら蒸発した水分を補ってやるとよい。

飽和ホウ酸溶液: ホウ酸 50g に水を加えて1ℓとし、十分に振り混ぜる。上澄液を使用する。

MM混合試薬: メチルレッド 0.2g をエチルアルコール (95v/v%以上) 50 ml に溶かし、これにメチレンブルー 0.1g をエチルアルコール (95v/v%以上) 50 ml に溶かした溶液をまぜる。有効期間は約1か月である。

0.1N 硫酸:

フェノール・アルコール溶液: フェノールを、プロピルアルコール 5 ml に 95% エチルアルコールを加えて全量 100 ml とした液に溶かす。

ニトロプルシッドナトリウム溶液: ニトロプルシッドナトリウム 1g を水 200 ml に溶かす。しゃ光して貯え、調製後1か月以内に使用する。

アルカリ性くえん酸ナトリウム溶液: くえん酸三ナトリウム 100g および水酸化ナトリウム 5g を水に溶かして全量を 500 ml とする。

次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素約 5w/v%): 市販の次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素 7~12%) の有効塩素を定量し^{*}、有効塩素が約 5w/v% となるように水でうすめる。

酸化剤溶液: アルカリ性くえん酸ナトリウム溶液 4容と次亜塩素酸ナトリウム溶液 (有効塩素約 5w/v%) 1容とを混ぜ合わせる。調製当日内に使用する。

アンモニア性窒素標準溶液 (0.01mg N/ml): 塩化アンモニウム (NH₄Cl) をあらかじめ硫酸を入れたデシケター中で4時間以上乾燥したのち 0.382g を正しくはかりとり、水に溶かしてメスフラスコ 1ℓ に入れ、水を加えて1ℓとする。これを原液とする。

原液 100 ml を正しく別のメスフラスコ 1ℓ にとり、水を加えて1ℓとする。この標準液は使用のつど調製する。

2 試験溶液の調製方法

検水の適量 (250 ml 以下) を蒸留フラスコ 1ℓ にとり、検水がいちじるしく酸性の場合には、水酸化ナトリ

ウム溶液 (1N) を用いて pH を約 7 としたのち、水で全量を約 250 ml とする。沸騰石を入れ、ついでデバルダ合金 1g および水酸化ナトリウム溶液 (10N) 5 ml を加え、ただちに蒸留装置の冷却管と連結する。なお冷却管の先端は、共せん付メスシリンダー 250 ml 中に入れた飽和ほう酸溶液 20 ml 中にあらかじめ浸しておく (冷却管の先端は、一端のみすり合せとした直管を連結しておくとも便利である)。ついで毎分 3~5 ml の留出速度で蒸留し、受器の液量が約 120 ml となったら蒸留をやめる。冷却管をとりはずし、管の内外を少量の水で洗い、洗液を受器に合わせたのちせんをする。

ついで蒸留フラスコ中の残留液を振りまぜながらケルダールフラスコ中に移し入れ、少量の水で洗い、洗液をケルダールフラスコ中に合わせたのち、硫酸 (95%以上) 20 ml を加え、石綿付金網上で注意して強熱し、硫酸の白煙が発生し、内容物が無色ないし淡黄色となるまで加熱を続ける。冷後分解液中に水約 100 ml を少量ずつ注意して加え、これを蒸留フラスコ 1ℓ 中に移し、さらに水約 200 ml を用いて洗い移す。沸騰石を入れ、ついで水酸化ナトリウム溶液 (10N) 90 ml を加えてアルカリ性としたのち、ただちに冷却管と連結する。なお、冷却管の先端はさきの共せん付メスシリンダー 250 ml 中の留出液中にあらかじめ浸しておく。ついで毎分 3~5 ml の留出速度で蒸留し、受器の液量が約 230 ml となったら蒸留をやめる。冷却管をとりはずし、管の内外を少量の水で洗い、洗液を受器に合わせたのち水で 250 ml とし、これを試験溶液とする。

この試験溶液中の窒素 (アンモニア性窒素) の濃度に応じて、[3-1 滴定法] あるいは、[3-2 吸光光度法] により、アンモニア性窒素を測定し、検水中の全窒素を求める。

なお、検水と同量の水について以上の全操作にわたって空試験を行い、空試験用試験溶液を調製する。

3 定量方法

3-1 滴定法

試験溶液の適量 (V ml, アンモニア性窒素として 1.4mg 以上を含む量) をとり、MM混合指示薬 2~3滴を加えて、0.1N 硫酸で赤紫 (pH 4.8) を呈するまで滴定し、ここに要した 0.1N 硫酸の ml 数 (a) を求める。

別に空試験用試験溶液 V ml について同様に滴定し、ここに要した 0.1N 硫酸の ml 数 (b) を求め、次式によって検水中の全窒素 mg/ℓ を算定する。

$$\frac{\text{全窒素 (N mg/ℓ)}}{\text{検水 ml}} = (a - b) \times F \times \frac{250}{V} \times \frac{1000}{1.40}$$

F: 0.1N 硫酸のファクター

3-2 吸光光度法

試験溶液の適量 (V ml, 40 ml 以下で、アンモニア

* たとえば JIS K0102 (1971) p 40 参照

性窒素として0.05mg以下を含む量)を比色管50 mlにとり、水酸化ナトリウム溶液(1N)を用いてpHを約10としたのち、水を加えて50 mlとする。フェノール・アルコール溶液2 mlおよびニトロプルシッドナトリウム溶液2 mlを加えて振り混ぜたのち、酸化剤溶液5 mlを加え、室温(22~27℃)で1時間放置する。この液を吸収セル10 mmに移し、水を対照液として波長640nmにおける吸光度を測定する。別に空試験用試験溶液についても同様の操作により吸光度を求め、これを試験溶液についての吸光度から差引き、検量線から試験溶液中のアンモニア性窒素量(a mg)を求め、次式によって検水中の全窒素のmg/lを算定する。

$$\text{全窒素 (Nmg/l)} = a \times \frac{250}{V} \times \frac{1000}{\text{検水 ml}}$$

検量線の作成

アンモニア性窒素標準液(0.01mg N/ml)0, 1, 2, …… 5 mlを比色管50 mlにそれぞれとり、水を加えて50 mlとし、以下試験溶液と同様の操作を行って吸光度を測定し、アンモニア性窒素標準液0 mlのものの吸光度をさし引き、アンモニア性窒素(N)の量と吸光度との関係線を作成する。

測定上の問題点

1 還元

一般に好気性条件下で生物化学的分解が進むときは、有機性窒素、NH₃-Nがしだいに減少するにともないNO₃⁻-Nの増加が見られ、またNO₂⁻-Nもそれらの中間過程としての増減がみとめられることはよく知られている。したがって水中のNO₃⁻-NとNO₂⁻-Nの合計量の、全窒素に対する割合は、生物学的浄化の程度を現わしており、たとえば生下水が2~3%であるのに対して処理水は20~30%におよび(表1参照)、また

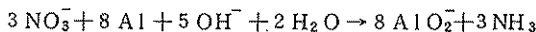
表1 下水および河川水中の窒素の態別分析結果の一例

試料		窒素形態				
		NH ₃ -N	NO ₂ ⁻ -N	NO ₃ ⁻ -N	org. N	total N
下水	終末処理場流入下水	1.9	0.33	0.76	1.8	3.8
	終末処理場放流水	8.8	0.21	6.80	2.0	1.8
河川水	多摩川水系平瀬川	1.5	0.11	2.6	3.5	7.7
	多摩川水系片平川	0.8	0.05	1.8	1.9	4.6
	麻生川合流点					

(単位 mg/l)

*

デバルダ合金によるNO₃⁻-Nの還元は、たとえばAlについては次式によって示される。



**

H₂SO₄濃度98.3%で水との共沸混合物をつくるが、その沸点は338℃である。

河川水についても、汚濁を受けてからの経過時間が十分に関係するが、表1の測定例が示すようにかなりの%をしめることが多い。

したがって処理水や一般の河川水について全窒素を求めるにあたっては、NO₃⁻-N、NO₂⁻-Nを定量的にNH₃-Nにまで還元する必要が必ず生じてくる。

デバルダ合金はアルカリ性において強力な還元力を発揮し^{*}、この点現行の「下水試験方法」および「上水試験方法」²⁾に載せられている条件、すなわち0.5~0.75Nの硫酸酸性でFeとZnの粉末を用いる方法ではNO₃⁻-N、NO₂⁻-NをNH₃-Nにまで還元することができない。デバルダ合金による還元力は、アルカリの濃度、デバルダ合金の使用量、放置時間等によって影響されるが、主として下水試料について検討を行った結果では、前記条件が適していることがわかった。

なお有機性窒素が検水中に存在する場合、このようなアルカリ性の還元によってどの程度分解してアンモニアに変換するかを、少数例の有機化合物について実験して

表2 アルカリ性還元操作における有機性窒素の分解割合

供試有機物水溶液	第1段留出液中 N濃度(A)	第2段留出液中 N濃度(B) (全窒素濃度)	A/B %
グルタミン酸(1.0%)	1.93mg/l	1.820mg/l	0.01
グリシン(0.5%)	0.83	1.600	0.05
尿素(0.2%)	49.2	1.670	2.95
ペプトン(1.0%)	86.1	1.930	4.46

みたところ、表2のような結果がえられた。³⁾すなわちグルタミン酸やグリシンはほとんど影響を受けないが、尿素やペプトンはこの操作条件で、すでにある程度アンモニアを遊離していることがわかる。またこのようなことから、第1段の蒸留によってえられた留出液中のアンモニアを、ただちに無機性窒素のトータルと見なすわけにはいかないことも明らかとなった。

2 有機物分解

生態系中の一環としての重要な意義をもつ有機性窒素は、主としてタンパク質、ポリペプチド、アミノ酸等、生物学的生産物質中に含まれる窒素であるが、これらはケルダール法によってアンモニア性窒素に変換できる。

ケルダール分解においては、ふつう、硫酸の沸点^{***}を上げて反応速度を増すためK₂SO₄を加えたり、分解を促進するためCuSO₄、HgO、Seなどを少量加えるが、前記の試験操作法では、第1段階として検水にアルカリやデバルダ合金を加えてあり、これが第2段階では硫酸の一部と反応して塩類を生成する結果となるが、これらの量は、Na₂SO₄ 3.6g、CuSO₄ 1.3g、ZnSO₄ 0.1g、Al₂(SO₄)₃ 2.9gに相当する。実測

表3 各種インドフェノール法の比較

分析条件	試験方法 JIS K0102(1971)	上水試験方法 ²⁾ 衛生試験法 ⁶⁾	提 案 法
試験溶液採取量 (ml)	10	10	50
最終容量 (ml)	25	20	59
NH ₃ -N量範囲 (試験溶液中) (mg)	0.001~0.04	0.001~0.01	0.005~0.05
NH ₃ -N濃度範囲 (試験溶液中) (mg/ℓ)	0.1~4	0.1~1	0.1~1
フェノール濃度 (最終容量中) (w/v%)	2	0.25	0.34
有効塩素濃度 (最終容量中) (w/v%)	0.12	0.025	0.1
反応促進剤	アセトン	ニトロプルシッドナトリウム	ニトロプルシッドナトリウム
液 温 (℃)	20~25	25~30	22~27
吸光度測定までの放置時間	20分	1時間	1時間
呈色後の安定時間	30分	2~3時間	24時間

の結果は硫酸単独の加熱の場合より約11℃の沸点上昇をみとめた。またCuSO₄ 1.3gは5水塩に換算すると2.0gにあたり、触媒として通常使用する量を十分に満している。したがってこれ以上あらたに補助剤を添加する必要はまったくないといえる。

3 留出液中のNH₃-Nの定量

全窒素に相当する留出液中のNH₃-Nを定量するにあたっては、前記のとおり滴定法、あるいは吸光度法を用いるが、試験溶液が一定容積にメスアップしてあり、ここから適当量とれることにしてあるため、未知試料で全窒素の濃度がまったく推定できないような場合には、まず滴定法によって概略を求めたのち、必要があれば吸光度法に切換えて定量すればよい。

滴定法が適用できるのは、検水(試料)中の全窒素濃度が少なくとも10mg/ℓ以上の場合に限られるが*、表1の実測例からもわかるとおり、都市下水あるいはし尿などについては滴定法で精度よく定量できるケースが多い。

従来NH₃-Nの吸光度法による定量法としてはネスラー法がもっとも普及していたが、ネスラー試薬が水銀化合物であるという理由から、同様に歴史は古いインドフェノール法へと漸次切換えられる趨勢にある。ただし感度の点でもこの方がすぐれているが、操作がネスラー法

*

検水量250ml、試験溶液のメスアップを250mlとし、この中から100mlとって滴定すると仮定すれば、0.1N硫酸の滴定値1mlは、検水中の全窒素濃度14mg/ℓに対応する。

ど簡単ではなく、またばらつきも少なくないため一般化しにくいという事情はある。種々のインドフェノール法について比較検討してみると、Zadorojny 等による方法⁵⁾が安定性、再現性の点ですぐれていることがわかったので、これに準拠して本法の操作条件を定めた。JISの“工場排水試験方法(K-0102-1971)”および“上水試験方法”(日本薬学会“衛生試験法⁶⁾”)も同一)におのおの収載されている方法と条件を比較すると表3のようになる。表中の安定時間はおのおのの文献に示された数値であるが、初期において吸光度がほぼ同程度である場合、時間の経過にしたがい吸光度がどのように変化するかを比較してみたところ、図2のような結果がえられ、JIS法以外の2法は呈色が安定であることがわかった。

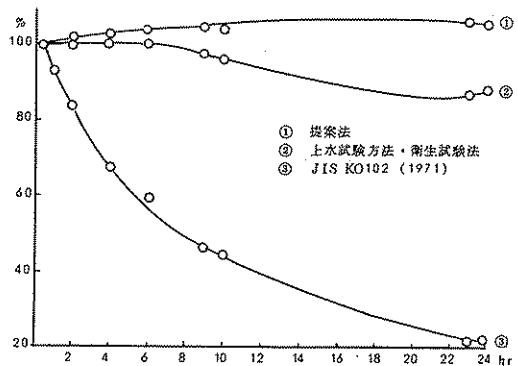


図2 呈色の経時変化(酸化剤溶液添加後30分間の吸光度を100%とする)

次にこの2法について再現性を比較してみると、“上

水試験方法⁷⁾の方はブランク値が常に約0.03を前後しているが、提案法は事実上ブランク値は0であるため、再現性が良いという利点がみとめられる。図3に検量線の一例を示す。

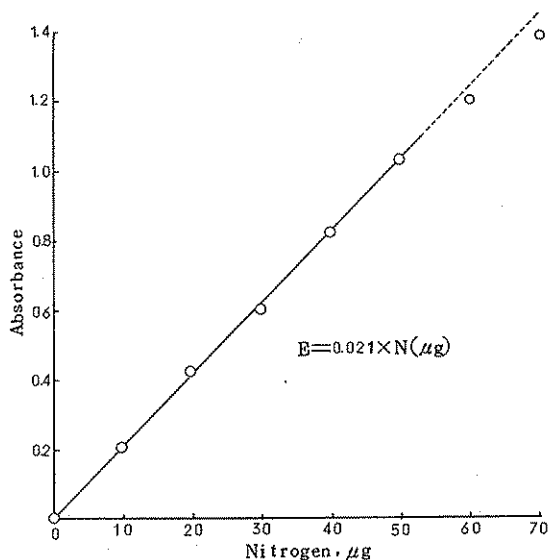


図3 提案法による検量線
(日立101 $d=10\text{mm}$ $\lambda=640\text{nm}$)

なお $\text{NH}_3\text{-N}$ の簡易定量法としてイオン選択電極が普及してきたが、本法の試験溶液について試みた結果、測定条件にもよるが、およそ滴定法と同程度の精度と考えられ、 $1\text{mg}/\ell$ 以下の微量分析には適用が困難であることがわかった。

むすび

水域の富栄養化現象を防止するため、近時各種排水について3次処理の必要性が生じ、過剰窒素のコントロールがその中でも重要な課題となっている。しかしこの実施にあたっては、水中の全窒素量の把握が要求されるにもかかわらず、従来適当な定量方法がなく、JISの工場排水試験方法には全窒素の項目すら見られない現状である。

このような事情にかんがみ、水中の全窒素を一連の試験操作によって定量しうる方法を確立するための実験的検討を行った結果、以上の成案をえた。

なおこの方法は「下水試験方法」の改訂版にとり入れられる予定となっていることを付記する。

引用文献

- 1) 日本下水道協会：下水試験方法，101～106，1967
- 2) 日本水道協会：上水試験方法，195～196，1970
- 3) 早川亮太，櫻村弘子：第17回全国環境衛生大会要旨集，102～103，1973
- 4) 佐々木佳子，小瀬洋喜，佐谷戸安好，中室克彦，外村正治：衛生化学，17(4)260～264，1971
- 5) C. Zadorojny, S. Saxton and R. Finger: Jour. Water Pollution Control Fed., 45(5) 905～912, 1973
- 6) 日本薬学会：衛生試験法注解，705，1973

Summary

For the evaluation of influences of sewage or industrial waste water to the eutrophication in lakes, rivers or sea, it is necessary to determine total nitrogen in these waters.

A desirable and practical method for the determination of total nitrogen in a successive procedure was examined, and the following method was recommended. The method involves the reduction of nitrite and nitrate nitrogen into ammonia with Devarda's alloy and the digestion of organic nitrogen by Kjeldahl method. Ammonia produced in two steps is distilled and trapped in boric acid solution, and determined by titrimetric or colorimetric techniques.